

**Université catholique de Louvain**

**Faculté d'ingénierie biologique,  
agronomique et environnementale**

---

**Détermination des densités de populations  
de CMA dans les systèmes bananiers de  
Martinique**

---

Promoteur: Stephan Declerck

Co-promotrice : Catherine Buysens

Mémoire présenté par :

**Thiago Nyssens**

en vue de l'obtention du diplôme de :

Bio-ingénieur en agronomie

Année académique 2011/2012

## Remerciements

Je remercie sincèrement Stephane Declerck, mon promoteur, de m'avoir offert la possibilité de réaliser ce stage au CIRAD, mais également pour l'aide apportée dans les derniers mois de ce travail, pour son souci de précision, ses remarques incisives mais utiles.

Un tout grand merci à mes deux maîtres de stage, Alain Soler et Patrick Quénéhervé, pour l'accueil et le cadre de travail dont j'ai bénéficié, mais surtout pour les nombreux conseils et idées qui furent plus que bienvenus face aux cours que prenaient mes expériences.

Ce travail n'aurait jamais pu se réaliser sans ceux et celles qui, en Belgique comme en Martinique, m'ont accordé un morceau de leur temps et leur énergie. Merci à Catherine Buysens, Paul-Alex Marie-Alphonsine, Martin Godefroid, voisin de bureau que je conseille à tous ; Marie Chave et Sylvie Cranenbrouck.

Je voudrais exprimer mes plus tendres remerciements à tous ceux qui m'ont témoigné leur appui pendant ces derniers mois de rédaction ; à ma famille pour son soutien, et notamment à ma grand-mère, dont la patience, la sagesse et l'écoute m'ont permis de tenir le cap. Merci également à la famille Corro, pour leur hospitalité légendaire et pour les nombreuses heures de relecture. Merci à toi Martin, pour ton bureau, ton joyeux bordel et ta discipline orthodoxe. Sans oublier tous les merveilleux habitants de cette bonne vieille fosse à qui j'adresse des salutations pleines d'amitché.

Merci à tous les stagiaires, collègues, amis, colocataires qui m'accueillirent chaudement dans leurs vies pendant quelques mois, qui, par je ne sais quelle magie, adoucirent un peu plus la douceur des Caraïbes et grâce à qui je me suis senti chez moi aussi tôt passé la porte de Moutte. J'en profite pour adresser une pensée à cette île, pour sa végétation époustouflante, envahissante et mystérieuse, pour ses paysages grisants et pour la vie au grand air en contact étroit avec cet équilibre parfait, apaisant, qu'est la nature.

Merci également à Georges Brassens, ce libre penseur, pour son génie du verbe, sa poésie et sa vision de la vie à la fois paillarde et sainte, optimiste et cynique ; et dont l'œuvre m'a accompagné pendant les longues heures de laboratoire.

Finalement merci à toi Marylène, qui partage ma vie depuis toutes ces années, et qui de près ou de loin, m'a tellement apporté.

## Résumé

**Mots clés :** Champignons mycorhiziens à arbuscules, MPN (Most Probable Number), PIM (Potentiel Infectieux Mycorhizien), *Musa x paradisiaca* L.

Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA - Phylum des Glomeromycètes) forment des associations symbiotiques avec les systèmes racinaires de presque 80% des angiospermes. Ces organismes ubiquistes peuvent représenter 5 à 50% de la biomasse microbienne du sol.

La symbiose mycorhizienne confère aux hôtes végétaux une meilleure nutrition minérale, une plus grande tolérance aux stress abiotiques ainsi qu'une protection accrue contre certains pathogènes. Ces organismes représentent un groupe fonctionnel clé à l'interface entre la plante et le sol, contribuant à la productivité et à la durabilité des agro-écosystèmes.

La banane (*Musa x paradisiaca* L.) bénéficie des associations avec les CMA. Cette plante domine le paysage agricole de Martinique (Antilles françaises) et est majoritairement cultivée à des fins d'exportation (cultivar AAA Cavendish). La production de banane plantain (AAB) destinée au marché local est plus marginale, mais non négligeable. L'utilisation des CMA représente une option intéressante pour répondre aux contraintes agro-environnementales économiques et sociales auxquelles ces systèmes de production font face aujourd'hui.

Ce travail comporte deux objectifs : (i) l'estimation du potentiel infectieux mycorhizien de parcelles agricoles martiniquaises à l'aide de deux méthodes différentes, qui feront l'objet d'une comparaison. (ii) L'établissement de relations entre les potentiels infectieux et des données agropédoclimatiques des parcelles de banane plantain échantillonnées.

Les deux méthodes d'estimation utilisées sont le Most Probable Number (MPN) qui estime la densité de propagules infectieuses dans le substrat testé ; et le potentiel infectieux mycorhizien (PIM) estimant la quantité de substrat nécessaire à la mycorhization de 50% d'une population de plantes. Les données pédoclimatiques ont été obtenues pour 17 parcelles testées. 5 parcelles de banane plantain ont fait l'objet d'une enquête sur les pratiques agricoles réalisées.

Les résultats obtenus pour chaque estimation ne diffèrent pas significativement les uns des autres. Des problèmes rencontrés lors du processus expérimental et les imprécisions inhérentes aux méthodes d'estimations sont tenus pour cause des biais et imprécisions des résultats. Ces causes sont approfondies dans ce travail afin d'en faire ressortir des améliorations des protocoles et des plans d'expérience.

Alternativement aux potentiels infectieux estimés, des pronostics sont réalisés sur base d'une confrontation entre les résultats agropédoclimatiques obtenus et les potentiels infectieux mycorhiziens mentionnés dans la littérature scientifique. Il en résulte que les sols martiniquais ont un grand pouvoir fixateur de Phosphore, approprié au développement de CMA. Nous avons également pu conclure que la culture de banane plantain est plus apte aux symbioses mycorhiziennes que la culture de Cavendish d'exportation.

# Table des matières

<b>CHAPITRE UN : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>1</b>
PREMIÈRE PARTIE : LES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS À ARBUSCULES.....	2
1. Généralités .....	2
2. Morphologie.....	2
3. Cycle de vie.....	4
4. Effet des CMA sur l'hôte végétal .....	4
DEUXIÈME PARTIE : LE BANANIER .....	8
1. Généralités .....	8
2. Principales maladies et méthodes de lutte.....	9
3. La banane et les CMA.....	11
TROISIÈME PARTIE : LA MARTINIQUE, CONTEXTE GÉOGRAPHIQUE DU TRAVAIL .....	12
1. Contexte général .....	12
2. Le secteur Bananier aux Antilles .....	12
QUATRIÈME PARTIE : LES CMA DANS L'AGRICULTURE.....	16
1. Quantifier les CMA dans l'agriculture : La dépendance mycorhizienne .....	16
2. Facteurs de variation de la dépendance mycorhizienne .....	17
3. Gestion des CMA dans l'agriculture .....	19
4. L'effet des pratiques culturales .....	21
5. L'effet des caractéristiques édaphiques.....	25
CINQUIÈME PARTIE : LE POTENTIEL INFECTIEUX MYCORHIZOGÈNE DU SOL.....	26
1. Un aperçu de la terminologie.....	26
2. Méthodes d'estimation .....	26
3. Comparaison entre MPN et PIM .....	34
<b>CHAPITRE DEUX : MATÉRIEL ET MÉTHODES .....</b>	<b>36</b>
PRÉAMBULE : CONTEXTE DE L'ÉTUDE .....	37
1. Premier Quadrimestre à l'UCL.....	37
2. Deuxième Quadrimestre au PRAM.....	37
PREMIÈRE PHASE : ESTIMATION DU POTENTIEL MYCORHIZIEN.....	39
1. Méthodes utilisées et plans expérimentaux.....	39
2. Matériel édaphique.....	40
3. Matériel végétal utilisé.....	44
4. Récolte et traitement du système racinaire .....	49
5. Observation et estimation du potentiel mycorhizien .....	50
6. Calculs .....	52
DEUXIÈME PHASE : RÉCUPÉRATION DE DONNÉES ÉDAPHO-CLIMATIQUES DES SOLS ÉTUDIÉS. ....	53
1. Données climatiques et de typologie des sols. ....	53
2. Analyses physico-chimiques. ....	53
TROISIÈME PHASE, CONSTRUCTION D'UNE TRAME D'ENQUÊTE DESTINÉE AUX EXPLOITATIONS DE BANANE PLANTAIN .....	54
1. Base de données.....	54
2. Choix de l'échantillon .....	54
3. Construction de la trame d'enquête.....	54
<b>CHAPITRE TROIS : PRÉSENTATION DES RÉSULTATS .....</b>	<b>56</b>
PRÉAMBULE : .....	57
PREMIÈRE PARTIE : MORTALITÉ.....	58



1. Taux de mortalité.....	58
2. Calcul des taux de mortalité.....	58
3. Analyse des facteurs de mortalité.....	59
DEUXIÈME PARTIE : ESTIMATION DES POTENTIELS INFECTIEUX.....	62
1. Les estimations PIM.....	62
2. Les estimations MPN.....	67
TROISIÈME PARTIE : DONNÉES PÉDOCLIMATIQUES DES PARCELLES ÉCHANTILLONNÉES.....	71
QUATRIÈME PARTIE, DONNÉES AGRONOMIQUES DES PARCELLES BANANIÈRES.....	73
1. Préambule.....	73
2. La trame d'enquête.....	73
<b>CHAPITRE QUATRE : DISCUSSION DES RÉSULTATS.....</b>	<b>77</b>
INTRODUCTION.....	78
PREMIÈRE PARTIE : ANALYSE DES TAUX DE MORTALITÉ.....	79
1. Préambule.....	79
2. Inférences statistiques.....	79
3. Analyse du modèle estimé.....	79
4. Hypothèses sur le taux de mortalité élevé.....	80
DEUXIÈME PARTIE : ANALYSE DES RÉSULTATS DES PIM.....	83
1. Modèles statistiques linéaires.....	83
2. Améliorer la précision des observations.....	84
3. Pour clôturer.....	85
TROISIÈME PARTIE : ANALYSE DES RÉSULTATS DES MPN.....	86
1. Homogénéité des résultats obtenus et causes possibles.....	86
2. Possibilités d'amélioration de l'expérience.....	89
QUATRIÈME PARTIE : LES MPN DE LA LITTÉRATURE SCIENTIFIQUE.....	90
1. La variabilité des MPN.....	90
2. La valeur des MPN.....	90
3. MPN estimés et données agro-édapho-climatiques.....	91
CINQUIÈME PARTIE : COMPARAISON DES TECHNIQUES MPN ET PIM.....	94
1. Niveaux des dilutions.....	94
2. Matériel Végétal Utilisé.....	94
3. Temps de croissance.....	94
SIXIÈME PARTIE : PERSPECTIVES.....	95
1. Les MPN et PIM comme outil de diagnostic pour les systèmes agraires :.....	95

# Chapitre un : Revue Bibliographique

# Première partie : Les Champignons mycorhiziens à arbuscules

---

## 1. Généralités

« Dans les conditions naturelles, la plupart des plantes n'ont pas de racines, elles ont des mycorhizes » (Azcón-Aguilar and Barea, 1997).

Mycorhizes, littéralement «champignon de racines», est le nom donné aux relations mutualistes entre certaines plantes terrestres et des champignons qui colonisent leurs systèmes racinaires. Les associations mycorhiziennes sont les symbioses les plus communes et les plus largement répandues (Smith, 1995). Leurs structures et fonctions varient selon les partenaires impliqués, mais le type d'interaction le plus commun est l'association mycorhizienne arbusculaire (Harrier and Watson, 2003) impliquant les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA). Ils peuvent représenter de 5 à 50% de la biomasse microbienne du sol (Cardoso and Kuyper, 2006). Ces micro-organismes sont des symbiotes obligatoires (Harrier and Watson, 2003), ils dépendent des photosynthétats produits par la plante pour compléter leur cycle de vie. En échange ils fournissent à la plante des minéraux (principalement le phosphore) prélevés dans le sol par un réseau mycélien dense.

Taxonomiquement, les CMA appartiennent au phylum des Glomeromycètes, dans lequel ils sont divisés en 4 ordres : Glomerales, Archaeosporales, Paraglomerales, Diversisporales (Declerck, 2011). Cette symbiose résulte d'une coexistence et d'une coévolution vieille de plus de quatre cents millions d'années. (Plenchette et al., 2005). Les CMA forment des symbioses avec des bryophytes des ptéridophytes et des gymnospermes (Declerck, 2011) et avec presque 80% des angiospermes (Harrier and Watson, 2003). On y retrouve la grande majorité des plantes horticoles et agricoles (Plenchette et al., 2005). Cependant, il existe certaines familles de plantes qui ne forment pas de mycorhizes. En effet, les Brassicacées, Caryophyllacées, Cypéracées, Juncacées, Chénopodiacées et Amarantacées, sont majoritairement non-mycotrophes (Cardoso and Kuyper, 2006).

Le large spectre d'hôtes des CMA, ainsi qu'une grande habilité de dispersion expliquent leur prévalence dans la plupart des écosystèmes terrestres (Duvert et al., 1990).

## 2. Morphologie

L'anatomie des CMA est adaptée aux deux milieux totalement différents dans lesquels ils se développent : la racine (phase intraracinaire) et le sol (phase extraracinaire).

### 2.1. Phase intraracinaire

-Hyphes intra-racinaires : Ils se développent dans les espaces inter ou intracellulaires du cortex racinaire en s'éloignant progressivement du point d'infection. Ils jouent un rôle dans le transport et l'échange de nutriments.

-Arbuscules : Structure impliquée dans les échanges bidirectionnels entre le symbiote fongique et la plante-hôte (Brown and King, 1982). Ils se développent dans l'espace intracellulaire, mais à l'extérieur de la membrane cellulaire avec laquelle ils forment des invaginations. Ils résultent d'une

ramification sur un modèle dichotomique à partir d'un hyphe provenant d'une cellule voisine ou d'un espace intercellulaire adjacent. Leur développement se réalise à une distance proche du front d'avancement des hyphes intraracinaires (Brown and King, 1982), de sorte que l'âge des arbuscules progresse avec la proximité au point d'infection.

-Vésicules : Ce sont des renflements d'hyphes riches en lipides et noyaux. Elles servent au stockage des lipides et glucides et à la reproduction. Les vésicules peuvent être intra ou intercellulaires. Deux genres de CMA, *Gigaspora* et *Scutellospora* n'en produisent pas. Par contre ils produisent des « cellules auxiliaires » de fonction semblable mais situées à l'extérieur du système racinaire (Declerck, 2011).

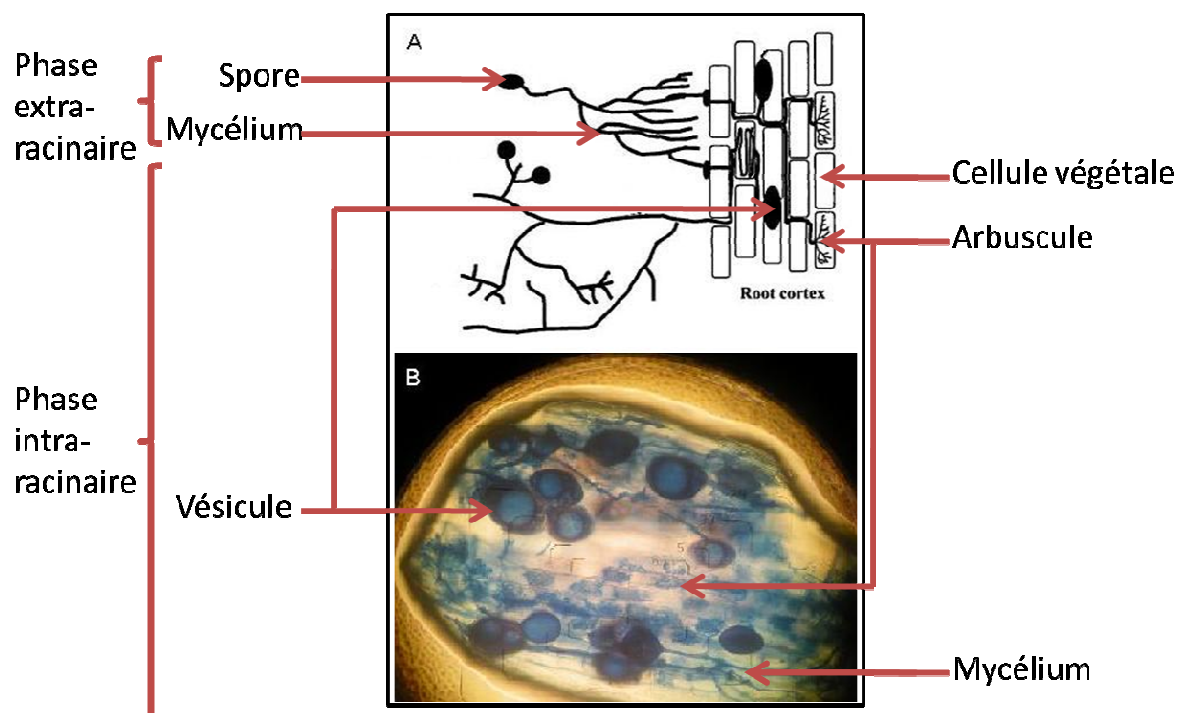


Figure 1 : (A) Schéma représentatif des différentes structures d'un champignon mycorhizien à arbuscules (Harrier and Watson, 2003). (B) Photographie au microscope optique : racine mycorhizée colorée au Bleu de trypan.

Réalisation : Catherine Buysens (UCL). Légende réalisée par l'auteur.

## 2.2. Phase extraracinaire

-Hyphes extracellulaires : En formant un réseau étendu, ils forment un continuum entre le système racinaire et le sol (Bethlenfalvay, 1993). Ils jouent un rôle essentiel dans le prélèvement, la translocation et le transfert des éléments minéraux (surtout le Phosphore) du sol vers la plante (Declerck, 2011)

-Spores : Structures de reproduction intra ou extra racinaires, la diversité morphologique leur (je n'aime pas deux fois « leur », tu ne pourrais pas supprimer le deuxième « leur » ??) permet d'être utilisées dans la caractérisation taxonomique (Brown and King, 1982). Elles peuvent être isolées, groupées ou portées par des sporocarpes.

-Appressorium : Epaissement hyphal survenant à la surface de l'épiderme racinaire permettant l'adhésion du mycélium et facilitant ainsi la pénétration dans la racine lors de l'infection.

### **3. Cycle de vie**

Les propagules permettant d'initier le cycle de vie sont : (i) hyphes présents dans le sol, dans les racines vivantes ou fragments racinaires. (ii) spores, (iii) vésicules et cellules auxiliaires (Duvert et al., 1990).

Les hyphes germinatifs provenant de spores, vésicules et cellules auxiliaires ainsi que les hyphes végétatifs issus d'un réseau mycélien établi, ou d'un fragment racinaire mycorhizé, peuvent coloniser une racine (Brown and King, 1982).

Au contact de la racine, les hyphes vont initier le processus de pénétration. Il y a formation d'appressoria sur les cellules épidermiques (Brown and King, 1982). Au départ de ceux-ci, le cortex est colonisé avec formation d'hyphes, qui croissent et se ramifient dans les espaces inter- ou intracellulaires. Au départ de ceux-ci, des arbuscules intracellulaires sont formés. Finalement, des hyphes plus âgés peuvent se différencier en vésicules (chez certains genres) dans le cortex racinaire. En parallèle à l'infection intraracinaire, un réseau mycélien se développe dans le sol, produisant également des structures particulières comme les spores et les cellules auxiliaires (chez certains genres) (Smith et al., 1992). Ce réseau mycélien étend considérablement le volume de sol exploré par la racine mycorhizée. Un même réseau mycélien initie de nombreux points de colonisation au sein d'un système racinaire, mais également dans différents hôtes, établissant ainsi un contact entre des plantes distinctes. Le système mycorhizien établit donc un continuum entre le sol, le champignon et les hôtes.

### **4. Effet des CMA sur l'hôte végétal**

#### **4.3. Nutrition minérale**

Il a été démontré que les plantes mycorhizées bénéficient dans certaines conditions, d'une meilleure nutrition minérale. En particulier la concentration en phosphore, qui est le macro-nutriment le moins mobile dans le sol (Declerck, 2011), est augmentée dans les plantes mycorhizées. Dans une moindre mesure, la mycorhization peut améliorer la nutrition en potassium, azote et en micronutriments tels que le zinc et le cuivre.

La plus grande absorption de P peut s'expliquer par un volume de sol exploré plus important. En effet, la mycorhizosphère (zone d'influence de la racine mycorhizée) s'étend au-delà de la zone d'exploration de la racine (la rhizosphère). La présence de CMA augmente donc les surfaces et les volumes d'absorption (figure 2). On peut trouver 10 à 100 mètres de mycélium mycorhizien par cm de racines (Cardoso and Kuyper, 2006). Le P prélevé est transporté jusqu'aux sites d'échange par translocation passive. Le transfert vers la cellule végétale se fait au niveau de l'arbuscule et correspond à un transfert actif bidirectionnel (Declerck, 2011).

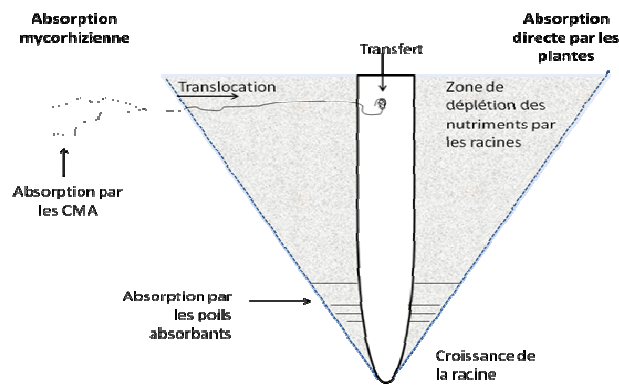


Figure 2 : Zones d'absorption des nutriments par les CMA et par les plantes (Declerck, 2011).

Toutefois, les CMA sont plus qu'une simple extension du système racinaire. Ils contribuent à la nutrition de manière directe et indirecte, à travers des modifications physiologiques de la plante-hôte et des actions sur les propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol. En voici quelques mécanismes :

- Les cinétiques d'absorption de P par les racines sont différentes de celles des CMA, ces derniers semblent avoir une meilleure affinité pour le phosphore (Declerck, 2011).
- Le diamètre des hyphes est largement inférieur à celui des poils absorbants. Ils peuvent donc pénétrer des microcavités inaccessibles aux racines (Cardoso and Kuyper, 2006).
- La mycorhization des plantes engendre des modifications dans les caractéristiques chimiques de l'environnement racinaire affectant la disponibilité de P. Les racines mycorhizées peuvent dès lors accéder aux réserves organiques et inorganiques de P indisponibles aux plantes non-mycorhizées (Cardoso and Kuyper, 2006)
- Il existe des interactions entre CMA et les micro-organismes rhizosphériques, notamment avec des bactéries solubilisatrices de P (Declerck, 2011), ou des bactéries fixatrices d'azote (Cardoso and Kuyper, 2006).
- Au niveau des interactions plante-plante, bien que fut démontrée l'existence de flux de carbone entre plantes reliées par un réseau mycélien de CMA, rien n'indique que la magnitude de cet effet soit significative pour la croissance de la plante (Bethlenfalvay, 1993).

#### 4.4. Protection contre les pathogènes et ravageurs

Dans la rhizosphère, il existe trois types d'interactions biologiques, à savoir les interactions plantes-plantes, plante-micro-organismes et micro-organisme-micro-organisme. Etant donné que le bio-contrôle consiste en la gestion optimisée des composants de l'écosystème dans la protection des plantes, l'implication des CMA dans ces trois types d'interaction leur confère un potentiel de protection biologique reconnu. De nombreuses recherches ont pu confirmer ce potentiel (voir article de synthèse Azcón-Aguilar and Barea, 1997). Les résultats montrent globalement que l'augmentation de la résistance ou de la tolérance des plantes aux pathogènes requiert l'établissement d'une symbiose fonctionnelle préalablement à l'attaque par le pathogène.

L'amplitude de la résistance dépend de la souche de CMA, du pathogène, de la plante ainsi que des conditions environnementales. L'extrapolation et les inférences pratiques des observations réalisées dans un système restent difficiles étant donnée la complexité des systèmes considérés. Azcón-Aguilar et Barea (1997) soulignent l'intérêt d'exploiter les propriétés prophylactiques des CMA en association avec d'autres micro-organismes telluriques.

L'ensemble des recherches menées à ce jour a permis de dégager sept mécanismes par lesquels la symbiose mycorhizienne est susceptible d'augmenter la résistance des plantes aux pathogènes (Azcón-Aguilar and Barea, 1997).

1. la contribution des CMA à la nutrition minérale des plantes résulte en des plantes plus vigoureuses ayant une meilleure résistance aux stress biotiques.
2. la compensation des pertes de biomasse ou de fonction racinaire occasionnées par les pathogènes.
3. la compétition pour les produits de la photosynthèse.
4. la compétition pour les sites d'infection et de colonisation.
5. les changements anatomiques et morphologiques du système racinaire.
6. les altérations quantitatives et qualitatives des populations microbiennes de la rhizosphère, à travers notamment des changements quantitatifs et qualitatifs d'exsudats racinaires qui pourraient influencer une population plus bénéfique pour la plante, contenant par exemple des micro-organismes antagonistes de pathogènes.
7. l'induction de mécanismes de résistances systémiques et locales par les CMA. Pendant la colonisation mycorhizienne, les mécanismes de résistance sont faibles et transitoires, suggérant qu'ils sont supprimés durant l'établissement de la colonisation. Mais toujours est-il que le système racinaire mycorhizé semble être subséquemment plus réactif lors de l'attaque par un pathogène, en conséquence d'une élicitation induite par les CMA.

#### **4.5. Tolérance aux stress abiotiques**

La présence de CMA peut protéger la plante contre certains stress abiotiques tels que la présence de métaux lourds, ou d'ions phytotoxiques. Ainsi, les CMA peuvent restaurer l'équilibre d'absorption minérale altéré par les métaux lourds, ainsi que diminuer la toxicité aluminique des sols (Cardoso and Kuyper, 2006). Les stress hydriques et salins sont également diminués chez les plantes mycorhizées (Gianinazzi et al., 2010). Enfin, la mycorhization peut fournir à la plante une meilleure résistance aux stress provoqués par les biocides. (Plenchette et al., 2005).

#### **4.6. Effet des CMA sur les sols**

La structure du sol affecte les potentiels d'érosion, les dynamiques hydriques et les cycles bio-géochimiques des nutriments. Une des composantes majeures de la structure du sol est l'agrégation des particules qui le composent (Cardoso and Kuyper, 2006).

Les polysaccharides très stables exsudés par le mycélium des CMA, tels que la glomaline (Declerck, 2011), assurent la cohésion physique des microparticules du sol. Le réseau mycélien agit donc comme un squelette assurant la cohésion des particules du sol (Cardoso and Kuyper, 2006).

Les exsudats et la prédation des hyphes rendent les CMA responsables d'une large part de la fourniture de carbone provenant de l'hôte vers les organismes du sol (Cardoso and Kuyper, 2006). Cet apport fournit l'énergie supportant la diversité des micro-organismes du sol (Bethlenfalvay, 1993), qui est à son tour nécessaire à la formation du matériel organique impliqué dans la cohésion du sol. En effet, les interactions physico-chimiques entre acides humiques et feuillets d'argile (complexes argilo-humiques) contribuent également à la formation d'agrégats.

Cette chaîne de causalités peut conduire in-fine à une meilleure croissance des plantes. La présence de CMA améliore la nutrition minérale donnant des végétaux plus résistants aux stress. Leur plus grande vigueur augmente la production de carbone et, par conséquent, augmente la disponibilité du C pour le CMA et sa redistribution dans le sol (Bethlenfalvay, 1993).



# Deuxième partie : Le bananier

---

## 1. Généralités

Le bananier appartient à l'ordre des Zingibérales et à la famille des Musacées. Il trouve son origine dans le Sud-est asiatique. La plupart des variétés cultivées dérivent d'hybrides intra et interspécifiques entre deux espèces diploïdes sauvages *Musa acuminata* et *Musa balbisiana* (Lassoudière, 2007). C'est une herbe géante pouvant atteindre trois mètres de haut et qui ne présente pas de croissance secondaire.

L'essentiel de l'appareil végétatif (figure 3) est composé du système foliaire, d'un pseudo-tronc formé par l'imbrication des gaines foliaires et de la tige souterraine qui, d'un point de vue physiologique, est la plaque tournante de la plante. Le système racinaire, lui, est composé de racines primaires produites continuellement à partir de la même zone tout au long de la phase végétative. Ce caractère superficiel du système racinaire par rapport à la taille de la plante aura d'importantes conséquences agronomiques (Lassoudière, 2007).

Le bananier est majoritairement cultivé pour son fruit parthénocarpique charnu. Lors de la transition florale, le méristème apical finit par se transformer en méristème floral. La croissance de la plante est donc déterminée. Parallèlement, la tige souterraine s'allonge et traverse le pseudo tronc pour former le rachis ou hampe florale. Chaque fleur femelle, donnera une banane par augmentation du volume de l'endocarpe sans fécondation (parthénocarpie végétative). (Lassoudière, 2007).

La reproduction végétative se fait par le biais de rejets (figure 3) émis à partir des bourgeons axillaires au niveau de la tige souterraine (rhizome). Les rejets subissent pendant une partie de leur croissance un contrôle nutritionnel et hormonal de la part de la plante-mère, et ce jusqu'à la récolte du régime de fruits de la plante-mère.

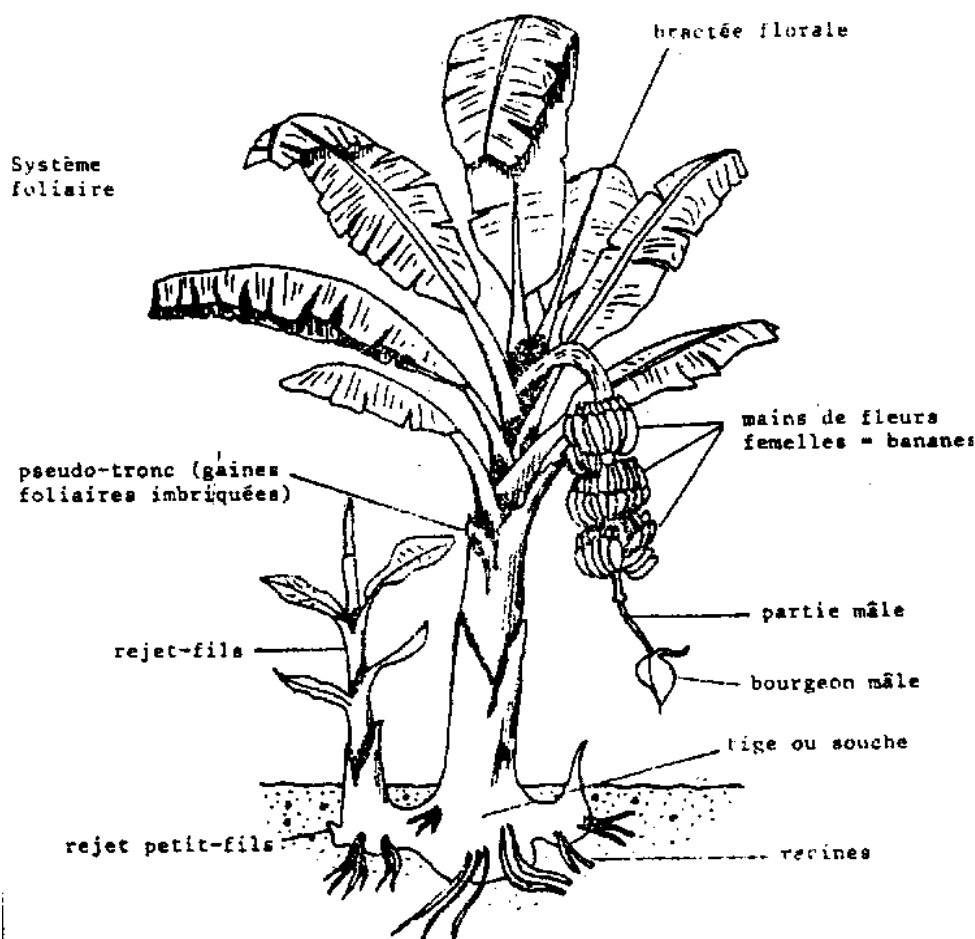


Figure 3 : Schéma général du bananier. (Lassoudière, 1978)

Il faut compter environ de 8 à 13 mois entre la plantation du bananier et la récolte de son régime qui peut peser en moyenne de 20 à 30 kg (Lassoudière, 2007). Plusieurs cycles se succèdent sur une même parcelle, et peuvent se prolonger sur de longues périodes. Mais des baisses de rendement attribuées à la désynchronisation des cycles, à une pression croissante de maladies et ravageurs, ainsi qu'à des problèmes d'architecture de la parcelle (à savoir : la disposition physique des plantes dans la parcelle et ses conséquences quant à la circulation de l'air et de l'interception lumineuse), nécessitent la destruction de la parcelle après un certain temps. Le développement d'une parcelle de banane, allant de la plantation à la destruction, dure en moyenne 5 récoltes.

## 2. Principales maladies et méthodes de lutte

### 2.1. Les cercosporioses

Cercosporioses jaunes et noires (respectivement *Mycosphaerella musicola* et *fijiensis*), sont les maladies fongiques responsables des plus grandes pertes occasionnées sur les bananiers. L'impact sur le rendement est essentiellement attribué à une diminution de la surface foliaire photosynthétiquement active. Contrairement aux bananiers de type plantains, le cultivar Cavendish est très sensible aux deux cercosporioses. Mondialement la cercosporiose jaune régresse face à la cercosporiose noire dont le développement est plus rapide et les dégâts économiques plus importants. La cercosporiose noire représente par ailleurs aussi un danger pour les plantains.

L'ablation des limbes touchés ainsi qu'une gestion de l'architecture de la parcelle permettent de diminuer les dégâts, malgré que la lutte chimique reste aujourd'hui inévitable (Lassoudière, 2007). Des systèmes d'avertissement permettent également de réduire la fréquence de pulvérisation. Notons que l'épandage aérien dans les grandes exploitations cause des problèmes de dérive des produits pulvérisés, tandis qu'au sol, seul le pulvérisateur à dos se montre efficace (Carre et al., 2011), aux dépens parfois de la santé de l'utilisateur.

## **2.2. Les fusarioses et autres maladies**

*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, ou maladie de panama, est un agent de pourriture du système vasculaire des bananiers. Cette maladie fut la cause de la disparition du Cultivar « Gros Michel » dans les années 60', au profit du cultivar « Cavendish » (Declerck, 2011). L'utilisation de variétés tolérantes est le seul moyen de lutte efficace (Lassoudière, 2007). Cependant, même pour ces variétés il y a un risque de développement de nouvelles races de *Fusarium* potentiellement dangereuses. Citons aussi *Cylindrocladium* sp., des agents de pourriture racinaire contre lesquels les moyens de lutte sont peu développés en dépit des dégâts non-négligeables.

## **2.3. Charançons et autres ravageurs**

L'ennemi numéro un de la banane est le charançon noir (*Cosmopolites sordidus*). La femelle pond à l'intérieur du bulbe du bananier, les larves en s'y développant creusent des galeries. Les dégâts occasionnés sont principalement des chutes causées par les bulbes fragilisés, mais aussi des défauts de nutrition causant l'augmentation de la longueur des cycles ou encore la diminution de la taille des fruits.

De gros problèmes de pollution sont occasionnés par des moyens de lutte. Comme ceux, toujours d'actualité, liés à l'utilisation (depuis peu interdite) d'un organochloré très persistant, la Chlordéthane. Cela pousse aujourd'hui les agriculteurs à se tourner vers des techniques alternatives. Ainsi, des pratiques culturales simples peuvent être adaptées afin de restreindre les ressources alimentaires des adultes. Il existe des techniques de lutte biologique tels que les pièges à charançons ou les nématodes entomoparasites (Lassoudière, 2007).

Il existe d'autres parasites se nourrissant sur les régimes de banane. Les principaux parasites sont les thrips, facilement combattus par un gainage plastique précoce du régime, tandis que des pullulations de cochenilles et d'araignées rouges s'observent surtout dans des situations de traitement trop intense ou mal dirigé ayant rompu l'équilibre maintenu par les prédateurs naturels (Lassoudière, 2007).

## **2.4. Les nématodes**

Les endoparasites migrateurs (*Radopholus similis* principal agent de vieillissement des bananeraies en Martinique dans les années 80 ; *Pratylenchus* spp, *Helicotylenchus multicinctus*, *Haplolaimus seinhorstii*) (Lassoudière, 2007) sont particulièrement importants. Les dégâts causés par les endoparasites sont la destruction des cellules du cylindre cortical, causant sur la plante un déséquilibre nutritionnel et hydrique, la pénétration facilitée d'autres parasites, ainsi qu'une diminution de l'ancrage au sol.

Une lutte chimique demande 2-4 passages par an, et pose de nombreux problèmes de perte d'efficacité. De sorte que l'assainissement des parcelles est aujourd'hui largement répandu, via la mise en place d'une jachère entretenue exempte d'hôtes secondaires, ainsi que par des techniques

de destruction des résidus de culture. Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque cette pratique est couplée à l'utilisation de plants issus de la culture in vitro (vitroplants) indemnes de parasites (Chabrier and Quénéhervé, 2008). Cette technique augmente la durée de vie des plantations et permet d'éviter les traitements chimiques pendant les trois ou quatre premières années.

L'utilisation de nématicides en Martinique a été réduite de 63% entre 1996 et 2004 (Lassoudière, 2007).

### **3. La banane et les CMA.**

La banane est une plante mycotrophe. Bien que la nature du champignon endophyte soit déterminante pour les effets sur le rendement, la mycorhization de bananiers montre dans certaines conditions une réponse de croissance positive, ainsi qu'une amélioration nutritionnelle significative, et ce surtout dans les phases précoces de développement de la plante (Jaizme-Vega and Azcón, 1995). De nombreux résultats ont été obtenus par Lin et Fox (1987), Lin et Chang (1987), Knight (1988) dans Jaizme-Vega and Azcón (1995). La dépendance mycorhizienne (voir quatrième partie) dépend également du cultivar (Declerck et al., 1995). Les CMA interagissent avec des pathogènes comme *Cylindrocladium spathiphyllum*, ou encore *Radopholus similis*. Ces deux interactions résultent en une diminution des populations de pathogènes et de la gravité des maladies sur les plants de bananes (Plenchette et al., 2005; Jefwa et al., 2010). De plus, les sols tropicaux sont susceptibles de limiter les rendements agricoles via des toxicités (Al, Mn), ainsi que par un grand pouvoir fixateur de P (lié à des pH trop acides ou trop basiques) (Sieverding, 1990), ce qui rend la présence de mycorhizes d'avantage souhaitable.

# Troisième Partie : La Martinique, contexte géographique du travail

---

## 1. Contexte général

La Martinique est une île volcanique de l'arc des petites Antilles, située à une altitude de 14° Nord, entre la Dominique et Sainte-Lucie. Elle bénéficie d'un climat tropical humide toutefois adouci par une exposition aux vents dominants venant de l'Est : les Alizées (SIDE, 2011). Sa superficie totale est de 1128 km<sup>2</sup>, pour une population d'un peu moins de 400000 habitants recensée en 2008 (DEAL, 2011). Le Nord montagneux reçoit de grandes quantités de pluie (figure 1, annexe 1), tandis que le Sud est plus sec et moins accidenté. Deux saisons s'y succèdent, le « Carême » de décembre à mai, caractérisé par un climat plus frais et sec. Tandis que « L'hivernage », s'étendant de juin à novembre, apporte une pluviométrie plus intense et des températures plus élevées (tableau 1 annexe 1). En fonction des années s'observent des intersaisons plus ou moins marquées. Cette île possède d'abondantes ressources en eau bien qu'inégalement réparties, ainsi qu'une richesse écologique exceptionnelle avec un taux d'endémicité élevé. Cependant, son territoire insulaire restreint couplé à une forte densité de population augmente la pression exercée par les activités humaines sur l'environnement (SIDE, 2011).

### 1.1. Situation économique et sociale

La Martinique est une île française. C'est à la fois une région et un département d'outre-mer. L'économie de l'île est dominée par le secteur des services dont les services commerciaux (notamment touristiques) et administratifs occupent ensemble plus de 80% de la valeur ajoutée totale de l'île (Insee, 2010). Le secteur agricole occupait 2,5% de la valeur ajoutée en 2005, ce qui est tout de même supérieur aux moyennes nationales et européennes (IEDOM, 2007). Le taux de chômage est important (22% en 2009 ; Insee, 2010). L'étroitesse du marché intérieur ainsi que la forte demande internationale font que la production agricole est essentiellement axée sur la variété Cavendish, fortement installée dans le département depuis les années 60 en remplaçant la canne à sucre dont le cours a fortement baissé (IEDOM, 2007). La production bananière est essentiellement destinée à l'exportation, principalement voire exclusivement vers l'Europe (IEDOM, 2007). La Martinique en est le 32<sup>ème</sup> producteur mondial. En 2008, La Surface Agricole Utile (SAU) constituait 25% du territoire total, le cinquième de cette surface est destiné à la production de bananes. Cette culture représente 60% de la valeur ajoutée agricole totale, ainsi que 80% de la main-d'œuvre salariée agricole (DAAF, 2012a).

## 2. Le secteur Bananier aux Antilles

### 2.2. Données générales

Comme le montre le tableau 1, La filière banane est fortement dominée par la variété Cavendish d'exportation. Le reste de la production est constitué de variétés « dessert » locales telles que la frayssinette, les petites et grandes naines ou encore la figue-pomme, ainsi que de bananes plantain, consommées entant que source d'amidon (DAAF, 2007). Bien qu'il s'agisse de la même espèce

végétale, les deux filières (banane d'exportation et bananes locales) diffèrent totalement et ce, de la production à la commercialisation, par leurs structures, leurs systèmes agraires, ainsi que par les rendements générés (voir tableau 1).

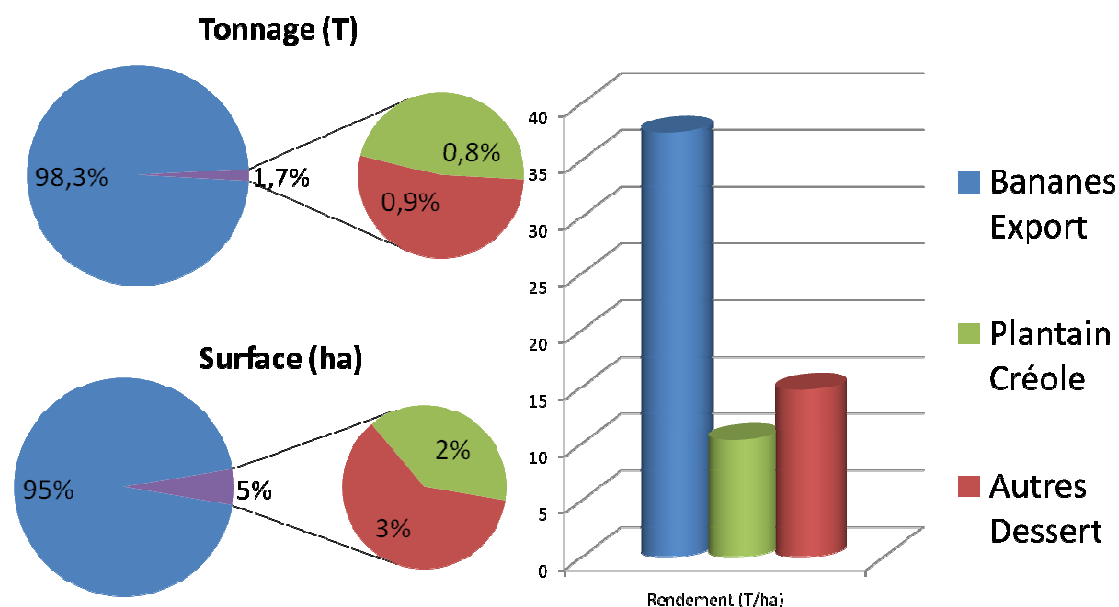


Tableau 1 : Rendements, tonnages et surfaces Bananières en Martinique pour l'année 2008. Réalisé par l'auteur à partir des données d'Agreste (Agreste, 2010)

## 2.3. Les bananes d'exportation

### 2.3.1. Pressions économiques

Depuis l'ouverture des marchés européens, la banane Martiniquaise essuie un certain recul. Le climat tropical humide antillais est certes propice à ce type de production, mais différents facteurs sociaux, économiques et édapho-climatiques expliquent les surcoûts de la production antillaise par rapport aux principales régions productrices concurrentes. En voici une liste non exhaustive (IEDOM, 2007) :

- La topographie : la majorité des parcelles ont des pentes abruptes impliquant des surcoûts en voiries, mécanisation et des pertes de fertilité par érosion.
- La taille limitée des parcelles.
- Le coût de la main d'œuvre, élevé car soumis aux normes européennes, alors que ce coût représente la proportion principale (32%) du prix de revient de la banane antillaise (Temple et al., 2008).
- La fréquence et l'intensité des cyclones avec 14 perturbations tropicales importantes en Martinique depuis 1959.
- L'éloignement géographique par rapport aux marchés destinataires, ainsi que l'insularité, qui rend difficile l'accès au foncier (notamment via une pression immobilière accrue), et l'étroitesse du marché intérieur en amont de l'agriculture (intrants, machines).

### **2.3.2. Pressions agro-environnementales**

Les bananes d'exportation passent par des filières de commercialisation de grande échelle et hautement structurées (IEDOM, 2007). Les exigences du marché et la nécessité de simplifier l'organisation du travail justifient une production caractérisée par des systèmes intensifs (Plenchette et al., 2005), dans des exploitations industrialisées et de grande taille pour la plupart. Plus de la moitié de la SAU bananière est allouée à des exploitations dépassant les 50 hectares (DAAF, 2007).

Dans ces régions tropicales, les systèmes culturels intensifs connaissent, à l'instar des systèmes intensifs des régions tempérées, des problèmes de durabilité, mais de manière exacerbée, en raison des contraintes suivantes (Plenchette et al., 2005) : (i) des plus grandes quantités de fertilisants qui sont appliquées pour rencontrer des potentiels de rendement plus hauts ; (ii) des quantités plus élevées de biocides sont utilisées contre une pression parasitaire accrue vue l'uniformité des régimes de température ; et (iii) les cultures sur des pentes abruptes et une pluviométrie élevée favorisent l'érosion et le lessivage des nutriments.

A cela, viennent s'ajouter d'autres contraintes particulières au contexte bananier Martiniquais :

L'aspect horticole de cette culture, à savoir la nécessité de produire des fruits homogènes de haute qualité, implique l'utilisation massive et fréquente de fertilisants et phytosanitaires. L'utilisation fréquente de nématicides altère l'équilibre biotique du sol. De plus, la pression parasitaire est augmentée par la pratique de la monoculture.

Des passages répétés et fréquents de la machinerie lourde amoindrissent la respiration microbienne, la biomasse de vers de terre ainsi que le taux de carbone organique du sol (Plenchette et al., 2005). Les pressions mécaniques et la présence de larges inter-rangs de sols maintenus nus causent une détérioration de sa structure donnant lieu à des phénomènes d'anaérobiose, de nécrose racinaire et de parasitisme accru (Perret and Dorel, 1999). A la lumière des considérations de la quatrième partie , ces systèmes de culture ne sont pas favorables au développement des CMA.

### **2.3.3. Contraintes sociétales**

A ces contraintes économiques et environnementales s'ajoutent des pressions sociétales croissantes pour une agriculture plus respectueuse de l'environnement, notamment via les régulations dans l'utilisation des biocides.

### **2.3.4. Une filière en crise**

Cette dernière décennie a connu une réduction continue du nombre d'exploitations bananières, témoignant d'une réelle crise technico-agronomique (Blazy et al., 2008). L'étroitesse du marché interne insulaire et la contamination à la Chlordechone d'une certaine quantité de sols bananiers empêchent la reconversion de ces agriculteurs (Blazy et al., 2008). Les chiffres montrent d'ailleurs que les pertes de surfaces bananières ne sont pas compensées par d'autres productions agricoles (DAAF, 2012a). L'épuisement de cette filière constitue donc un vrai danger pour l'économie du département.

Ce contexte légitime les recherches actuelles des instituts techniques et des centres de recherche agronomique tels que le CIRAD vers des techniques alternatives permettant de conserver ou améliorer les rendements tout en réduisant l'utilisation d'intrants chimiques. Cela passe par le

développement de stratégies qui se basent sur l'optimisation des processus naturels pour atteindre les objectifs agricoles, dont l'utilisation des micro-organismes du sol dans le maintien de la qualité du sol, la santé et la résilience du système agraire (Gianinazzi et al., 2010). L'intégration de la symbiose mycorhizienne semble dès lors une option intéressante.

## **2.4. Les bananes locales**

Les circuits de distribution des bananes locales ne sont que partiellement structurés, passant par la grande distribution mais également par la vente directe, les marchés et les échoppes aux bords des routes (DAAF, 2012b). Les exploitations concernées sont généralement de petite taille, et ne sont pas spécialisées. Elles réalisent en moyenne 3 à 4 productions différentes, suivant des schémas de successions culturales extrêmement variés (DAAF, 2012b). Le corollaire de l'importance économique quasi anecdotique comparée aux Cavendish, est le manque de recherche et développement dans ce secteur. La rareté des informations scientifiques en témoigne.

Les innovations techniques bananières vues précédemment ne sont pas toujours adaptées à ces systèmes de culture qui subissent pourtant les mêmes contraintes majeures et des fortes pressions de cercosporioses, de charançons et de nématodes<sup>1</sup>.

Les raisons de cette inadaptabilité sont multiples. Certaines innovations, telles que la production de vitroplants indemnes, ne sont tout simplement pas développées pour les plantains. De surcroît, les petites marges bénéficiaires engendrées par ces exploitations leur confèrent une très petite flexibilité économique (Blazy et al., 2008). Citons par exemple la baisse de revenu temporaire et parfois intolérable causée par des inter-cultures ou des jachères dans un contexte de faible disponibilité foncière.

Le potentiel d'adaptions techniques est pourtant bien présent, étant donné que ces exploitations de structure fréquemment familiale possèdent un haut niveau de flexibilité dans la réorganisation du travail (Blazy et al., 2008).

---

<sup>1</sup>Cette affirmation provient de données non publiées réalisées par P. Quénéhervé (IRD) et M. Godefroid (CIRAD). Elles résultent d'une enquête sur un large échantillon de parcelles de plantain en Martinique



# Quatrième Partie : Les CMA dans l'agriculture

---

## 1. Quantifier les CMA dans l'agriculture : La dépendance mycorhizienne

Il existe dans la littérature plusieurs indicateurs de l'importance ou du niveau de symbiose mycorhizienne. Le cadre agronomique de cette étude nous pousse toutefois à nous intéresser de plus près à la dépendance mycorhizienne, concept permettant d'évaluer sous un ensemble de conditions de terrain le rôle joué par la communauté de champignons endomycorhiziens sur le rendement, et donc d'estimer l'importance de maintenir un haut niveau de mycorhization sur une culture donnée, (Plenchette et al., 1983).

Proposé initialement par Geder mann en 1975 (dans Plenchette et al., 1983), ce concept définit « la mesure avec laquelle la plante bénéficie de la symbiose mycorhizienne pour atteindre son niveau maximal de rendement ou de croissance dans des conditions de fertilité du sol définies ». Plenchette et al (1983) définissent la DMRC, pour « Dépendance Mycorhizienne Relative au Champ » comme une manière de quantifier le concept de dépendance mycorhizienne : Pour un ensemble de conditions de sol-hôte(s)-communauté de CMA donné, la DMRC est la différence entre la matière sèche produite par la plante mycorhizée et celle produite par la plante non mycorhizée, en fonction de la matière sèche de la plante mycorhizée, selon la formule suivante.

### 1.1. Lien avec la densité de propagules

Cet indicateur a l'avantage d'être borné entre 0 et 100%. Avec 0% la symbiose mycorhizienne ne bénéficie pas du tout à la plante, et avec 100% la plante dépend entièrement de la symbiose pour réaliser son rendement.

A première vue, cette notion peut sembler digresser de l'objet de ce travail, dont le processus expérimental (qui sera développé dans la partie matériel et méthodes) repose sur l'estimation du nombre de propagules infectieuses. Toutefois nous pouvons, grâce à un concept « passerelle » présenté ci-dessous, faire le lien entre ces deux notions.

Le potentiel infectieux mycorhizien fut développé par Plenchette et al. (1989). Il correspond à l'habilité d'un substrat à établir des symbioses mycorhiziennes dans des conditions données. Cette habilité dépend étroitement de la quantité de propagules infectieuses présentes dans ce substrat.

Potentiel infectieux et dépendance mycorhizienne peuvent être vus comme la même notion, mais abordée selon deux points de vue différents d'un même phénomène, à savoir l'établissement de symbioses mycorhiziennes. Ces deux points de vue sont respectivement celui de la plante et celui du sol. Ils dépendent dès lors des mêmes facteurs et sont étroitement liés. En effet, le potentiel infectieux est une condition de l'expression de la dépendance mycorhizienne, cette dernière gouvernant le niveau du premier. La densité de propagules, au même titre que tous les autres facteurs présentés dans la section suivante, détermine le niveau de la DMRC.

## **2. Facteurs de variation de la dépendance mycorhizienne**

### **2.2. Au niveau de la plante**

#### **2.3. Facteurs génétiques de la plante cultivée**

La réceptivité mycorhizienne d'une plante c'est l'intensité avec laquelle les CMA colonisent leur système racinaire ; la réactivité mycorhizienne est la réponse de croissance à la mycorhization rapportée au taux d'infection racinaire (Douds Jr et al., 2005) ; la réceptivité et la réactivité sont toutes deux génétiquement déterminées et elles déterminent la réponse à la mycorhization qui diffère aussi bien entre les espèces qu'au sein de celles-ci.

Ces différences sont majoritairement attribuées aux exigences nutritionnelles de la plante et plus précisément à la capacité de la plante de se procurer les quantités de Phosphore dont elle a besoin (Plenchette et al., 1983).

En effet, la quantité de phosphore nécessaire à la plante, déterminée métaboliquement par l'efficacité d'utilisation de cet ion (Declerck et al., 1995), est influencée par un certain déterminisme génétique. Le génotype agit également sur la capacité de capter le phosphore via des facteurs morphologiques tels que la taille et la densité des poils absorbants ou la géométrie du système racinaire, (Plenchette et al., 1983).

#### **2.4. Stade phénologique de la plante**

Le stade phénologique de la plante détermine la disponibilité des carbohydrates pour la plante et le CMA (Adriano-Anaya et al., 2006), ainsi que les besoins de la plante en phosphore. Ceux-ci sont supérieurs en début de croissance par exemple (Smith et al., 1992). Le stade de croissance devient dès lors un facteur décisif pour le taux et l'étendue de la relation symbiotique.

##### **2.4.1. Biodisponibilité en Phosphore**

Le taux de colonisation est généralement inversement corrélé à la disponibilité de P dans le sol. Pour certaines plantes, la colonisation est totalement inexistante à partir d'un certain niveau de P, pour d'autres la colonisation a lieu même à de très hauts niveaux de P disponible (Smith et al., 1992). Le taux de mycorhization est notamment sous contrôle végétal. Les mécanismes sont peu connus, les flux de carbohydrates ou des modifications dans les processus de transport membranaire peuvent en faire partie (Smith et al., 1992). En effet, si le taux de Phosphore dans le sol est assez bas pour que sa concentration dans la plante soit limitante, l'inhibition de l'efflux de Carbone par l'hôte sera moindre (Sieverding, 1990).

Toujours est-il que tant qu'il y a mycorhization, l'absorption de P dans la plante est meilleure, bien que la croissance ne soit pas forcément améliorée (Smith et al., 1992). Selon la loi de Liebig, si le Phosphore n'est pas limitant, un niveau supérieur de celui-ci dans la plante n'occasionnera pas d'amélioration de rendement. Les différences de réponse à la mycorhization attribuées à la disponibilité de P sont donc dues à la manière dont la plante contrôle l'étendue de la colonisation (Douds Jr et al., 2005).

Pour un sol et une plante donnée, il y a donc une quantité maximale de Phosphore extractible à partir de laquelle la réponse de la plante à la mycorhization est nulle, du moins pour ce qui est de la

croissance de la plante. N'oublions cependant pas les autres effets de la mycorhization (Douds Jr et al., 2005).

En fonction du végétal et des niveaux de phosphore, la réponse à la mycorhization varie de telle sorte que ces différences permirent à Smith et al. (1992) de schématiser trois grands types de réponses (Figure 4).

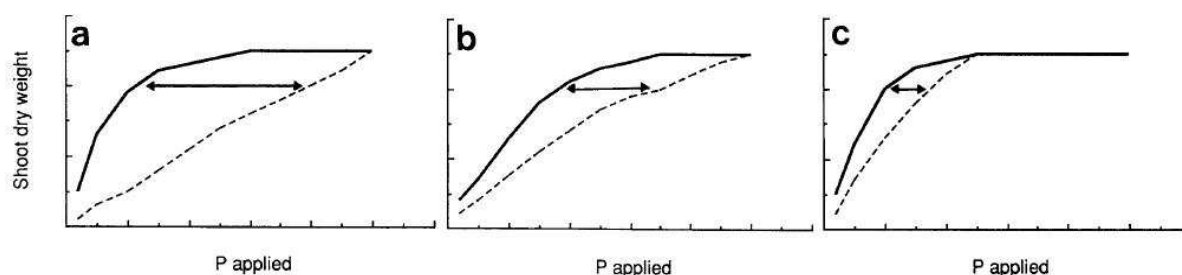


Figure 4: Courbes généralisées des réponses au phosphate de trois types de plantes. Trait plein, plante mycorhisée, trait pointillé, plante non-mycorhisée. Smith et al., 1992

Le graphe (a) de la figure ci-dessus représente les plantes hautement dépendantes à la mycorhization, même en conditions de sols riches en P. Le graphe (c) représente des plantes dont la réponse à la mycorhization est faible, peu importe le niveau de P. Entre ces deux situations extrêmes se situent la grande majorité des plantes, dont la dépendance mycorhizienne est largement reliée au niveau de P, situation représentée dans le graphe (b).

## 2.5. Au niveau du sol

### 2.5.1. Population de CMA

Les effets de la mycorhization dépendent des couples champignons-végétaux considérés. Les CMA possèdent un large spectre d'hôtes mais il existe néanmoins des associations préférentielles entre certains génotypes de plantes et champignons. En d'autres termes, la variabilité génétique des CMA se manifeste par des souches ayant des différents degrés de compétitivité et de spécificité d'hôtes (Rengel, 2002). Dès lors l'aspect qualitatif et quantitatif de la communauté de propagules infectieuses de CMA dans le sol influence la dépendance mycorhizienne (Douds Jr et al., 2005; Plenchette et al., 2005). Il est important de noter que les souches colonisant le plus la racine ne sont pas forcément celles qui affectent le plus le rendement (Declerck et al., 1995). Le lien entre DMRC et taux de colonisation varie en fonction du CMA impliqué. Pour ce qui est de prédire l'évolution de la distribution et de l'abondance des CMA dans un sol, il est nécessaire d'avoir une connaissance claire de la biologie et de l'écologie de chaque espèce (Abbott and Robson, 1991) et ce, en interaction avec l'hôte végétal, étant donné que la symbiose est sous contrôle génétique des deux partenaires (Declerck et al., 1995).

### 2.5.2. Population microbienne du sol

Entant qu'acteurs dans les interactions biologiques de la rhizosphère (Azcón-Aguilar and Barea, 1997), les populations de micro-organismes du sol influencent certainement la dépendance mycorhizienne (Plenchette, 2000).

## **2.6. Facteurs édaphiques**

Plenchette (2000) émet l'hypothèse que les caractéristiques physico-chimiques du sol, en plus de déterminer la réceptivité des plantes à la mycorhization, gouvernent également les stades précoces de développement de la symbiose non influencés par les végétaux, tels que la germination des spores.

## **3. Gestion des CMA dans l'agriculture**

Aujourd'hui, la communauté scientifique s'accorde sur le potentiel des CMA pour les applications agricoles, horticoles et forestières. L'utilisation dirigée des CMA implique d'une part le choix de souche(s) la/les plus adaptée(s) aux conditions environnementales et à la culture ciblée et d'autre part la mise en place de pratiques culturales compatibles avec l'expression de ces potentialités.

### **3.7. Choix de la souche.**

#### **3.7.1. Utilisation de souches exogènes**

Il est impossible de penser en terme de super-souche qui serait hautement efficace et adaptée à tous les hôtes et sols (Sieverding, 1990). Cependant, dans certains cas, une introduction au champ de souches sélectionnées pour leur adaptabilité aux pratiques agricoles peut donner lieu à des résultats plus marqués sur les rendements que les souches indigènes de CMA.

Les sols ayant subi au fil des ans des pratiques culturales altérant profondément les populations de CMA, des sols traités contre les micro-organismes (fumigation) ou encore des sols sévèrement dégradés (érosion, ablation des horizons superficiels) tirent un plus grand avantage de l'inoculation de CMA (Douds Jr et al., 2005). Ceci est lié notamment à une faible concurrence due au petit nombre de propagules indigènes présentes (Sieverding, 1990).

La plupart des souches exogènes aujourd'hui utilisées proviennent directement de la culture *in vitro*<sup>2</sup>, intéressons nous un instant à ce mode de production afin d'en dégager des avantages et désavantages de son utilisation et ainsi comprendre le panel de situations auxquelles il est adapté.

Etant des organismes biotrophes, la production *in vitro* des CMA est coûteuse et malgré de récents progrès significatifs, les coûts toujours prohibitifs des CMA sur le marché les rendent indisponibles en grande quantité pour l'agriculteur. Leur utilisation restera probablement confinée à des cultures à haute valeur ajoutée (Plenchette et al., 2005). L'introduction de ces champignons repose sur de nombreuses contraintes. Un avantage lié à cette production de type industriel est la possibilité de conservation et de transformation de l'inoculum afin d'être vendu sous des formulations diverses. Ce qui facilite leur transport et leur application mécanique au champ.

Le succès agronomique de cette technique, à savoir l'obtention d'un niveau de population de CMA suffisamment élevé pour permettre des effets agronomiques significatifs, dépend de l'adaptabilité et de la compétitivité de la ou des souche(s) introduite(s) par rapport aux conditions environnementales, biologiques et édaphiques du champ. Le succès est lié aussi aux déterminants génétiques affectant l'affinité entre l'acteur végétal et l'acteur fongique de la symbiose (Declerck et

---

<sup>2</sup> Un autre mode de production appelé « multiplication in-situ » (Douds Jr et al., 2005) existe mais ne sera pas développé dans le cadre de ce travail

al., 1995). De plus, le caractère biotrophe des CMA complexifie l'inoculation, et ce, malgré leurs larges spectres d'hôtes.

Cette technique est donc envisageable pour des cultures passant par un stade en pépinière avant leur transfert au champ. En effet, le passage par le stade pépinière a pour avantage que l'infection des plantules nécessite une plus petite quantité d'inoculum, dont l'infectivité peut être plus aisément contrôlée qu'au champ. La pré-colonisation par les CMA introduits permet de transférer au champ des plantules pour lesquelles les bénéfices de la symbiose sont immédiats. Dès lors, l'efficacité des champignons introduits est plus indépendante de l'environnement et de la population microbienne au champ (Douds Jr et al., 2005).

### **3.7.2. Souches indigènes**

L'utilisation des souches indigènes, correspondant dans beaucoup de cas à des symbioses moins efficaces au niveau du rendement agricole, ont pour grand avantage d'être bien adaptées à l'environnement dans lequel elles se trouvent (Plenchette et al., 2005). Leur gestion est donc plus aisée et moins onéreuse. La diversité composant ces populations est aussi un avantage à la lumière de plusieurs démonstrations sur la diversité fonctionnelle des CMA (Douds Jr et al., 2005).

## **3.8. La gestion de la population**

### **3.8.1. La diversité de la population.**

Au delà de l'aspect quantitatif de la population de CMA, l'aspect qualitatif est d'une grande importance. La proportion d'une souche de CMA dans une population dépend de sa compétitivité par rapport aux autres espèces. La compétitivité varie en fonction de l'hôte, qui, bien que peu spécifique, réalise des relations préférentielles avec certaines souches de CMA ; elle varie aussi avec les conditions environnementales (Sieverding, 1990). Dans un système agricole composé d'une communauté végétale uniforme et soumis à de nombreux stress culturels, il se peut qu'une ou plusieurs espèces de CMA bénéficient d'une meilleure compétitivité. La composition de la population est modifiée, risquant d'amenuiser à terme la diversité de ces champignons. La diversité des CMA décline progressivement entre des écosystèmes naturels et des agro-systèmes intensifs (Sieverding, 1990).

Deux stratégies s'offrent dès lors à l'agriculteur. Premièrement, il peut se contenter d'une faible diversité, constituée d'espèces adaptées à un système intensif. Pour autant que ce petit nombre d'espèces soit composé de champignons efficaces d'un point de vue agronomique. Ce n'est pas toujours le cas, en effet, des baisses de rendement dans des systèmes de monoculture ont été attribuées à la sélection de souches de CMA très compétitives mais non efficaces (Sieverding, 1990; Harrier and Watson, 2003; Douds Jr et al., 2005). L'inoculation semble dès lors être un bon choix si elle est économiquement faisable.

Deuxièmement, une haute diversité maintenue dans un système à gestion agricole peu intensif (Adriano-Anaya et al., 2006) est défendable car chaque souche de CMA apporte des bénéfices à la production agricole sous des situations de stress différentes (Sieverding, 1990), donnant lieu à une production plus sûre, et compatible avec des fermes dont la fragilité et l'aversion au risque sont en conflit avec l'utilisation de hauts niveaux d'intrants (Plenchette et al., 2005). Dès lors, le maintien de la diversité passe par des pratiques culturales menant à une population hétérogène dont toutes les espèces sont présentes en équilibre et ont une chance équivalente de mycorhizer la culture

récemment implantée (Sieverding, 1990). Ces équilibres peuvent être atteints par des périodes de jachère, la polyculture, des rotations, ou encore une gestion moins intense des mauvaises herbes.

## **4. L'effet des pratiques culturales**

### **4.9. Préambule**

Contrairement aux écosystèmes naturels où seuls les stress environnementaux définissent les limites d'une communauté d'organismes, l'évolution d'un agro-système est en grande partie déterminée par les stress culturels imposés par l'homme. L'intensité des interventions humaines effectuées sur un écosystème est dès lors inversement corrélée à la stabilité de celui-ci (Bethlenfalvay, 1993). Les pratiques culturales peuvent affecter la plante, le sol, ou les deux simultanément. Le système fonctionnant comme une entité, chacune de ses composantes subissant un stress, le transmet aux autres composantes (Bethlenfalvay, 1993). Les CMA, organismes clés de la rhizosphère, en lien avec plusieurs composantes du système et permettant à celui-ci de fonctionner comme un continuum complexe (Bethlenfalvay, 1993) sont donc particulièrement affectés par les pratiques culturales.

Au vu de ce qui précède, une gestion raisonnée des mycorhizes dans un système agricole passe par la compréhension de la manière dont les stress culturels imposés au système par l'homme influencent la fertilité du sol ainsi que les populations végétales et microbiennes. La gestion des CMA équivaut, en d'autres termes, à la conservation ou l'augmentation de la dépendance mycorhizienne des plantes cultivées (Douds Jr et al., 2005; Plenchette et al., 2005).

Les liens entre des pratiques culturales particulières et des résultats sur l'abondance des CMA paraissent souvent inconsistants (Jordan et al., 2000). Il est en effet difficile d'isoler les effets d'une seule action, chaque pratique ne pouvant être vue indépendamment du système auquel elle appartient (Harrier and Watson, 2003). C'est pourquoi il est indispensable de raisonner en terme de systèmes de culture, caractérisés par un ensemble de pratiques liées les unes aux autres (Figure 5). Cette nécessité ajoute un degré de complexité dans la gestion des CMA dans un système agricole (Plenchette et al., 2005). Voici un aperçu des effets des pratiques agricoles relatés dans la littérature scientifique.

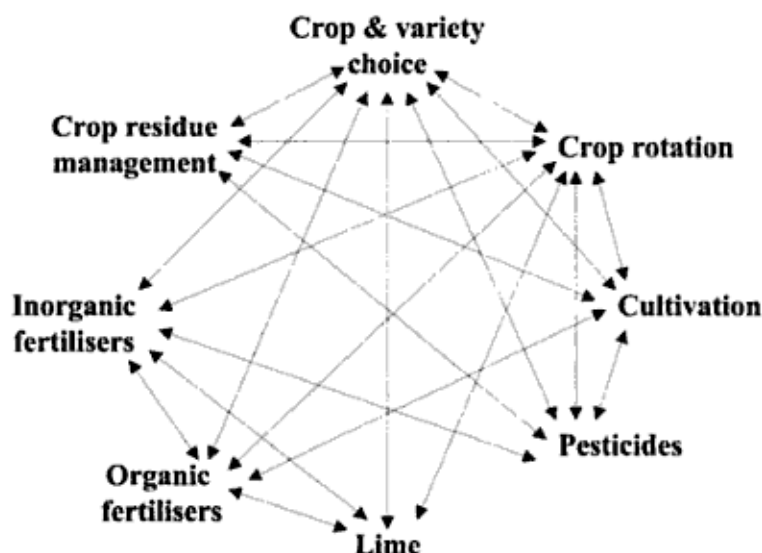


Figure 5: Schéma des pratiques culturales influençant les AMF dans les sols ainsi que les interactions majeures qui existent entre elles (Harrier and Watson, 2003).

#### 4.10. Séquences culturales

La rotation culturale est un outil très puissant pour la gestion des maladies et ravageurs, des mauvaises herbes, ainsi que pour le management de fourniture de nutriments (Harrier and Watson, 2003). Les précédents culturaux peuvent affecter le rendement d'une culture, les CMA sont susceptibles d'y jouer un certain rôle.

Le choix des séquences culturales est un facteur de grande importance pour l'évolution des populations de CMA dans le sol (Plenchette et al., 2005). Les rotations affectent qualitativement les communautés de CMA, ainsi que quantitativement, en incluant généralement des plantes ayant des gammes différentes de dépendance mycorhizienne, qui affectent subséquemment le nombre de propagules présents dans le sol (Smith et al., 1992). L'intégration de plantes non-mycotrophes dans des rotations culturales a montré sur la culture suivante des diminutions de rendement, de P dans les phases précoces de la plante, ainsi que des diminutions du taux de mycorhization des systèmes racinaires (Harrier and Watson, 2003).

#### 4.11. Jachères et cultures intermédiaires

L'influence de la jachère dépend d'une part de sa durée et d'autre part de la gestion des mauvaises herbes qui y poussent (Plenchette et al., 2005).

A l'instar des jachères enherbées de courte durée, le recours à des plantes de couverture ou aux engrais verts, en plus d'améliorer la qualité et la structure du sol, de limiter l'érosion et de réduire les apports de fertilisants et phytosanitaires, peut avoir pour effet d'améliorer substantiellement la diversité et l'abondance d'organismes du sol, dont les CMA (Jordan et al., 2000).

Sur un sol maintenu nu par contre, les CMA ne développent pas de symbioses. Le maintien de la population dépend donc de la viabilité des propagules dans le sol (Plenchette et al., 2005). De plus, dans des conditions chaudes et humides, la germination des propagules est favorisée ; elles épuisent les réserves énergétiques et cela altère donc leur viabilité (Douds Jr et al., 2005). Le potentiel infectieux diminue donc avec le temps, jusqu'à des niveaux risquant à long terme de

compromettre la régénération de la population de CMA (Bethlenfalvay, 1993). Ajoutons à cela les effets délétères de l'érosion sur le nombre de propagules infectieuses (Abbott and Robson, 1991).

#### **4.12. Amélioration et sélection variétale**

La majorité des programmes d'amélioration sont réalisés sur des substrats contenant de hauts niveaux de nutriments. Sous ces conditions, la colonisation mycorhizienne et ses effets sur la croissance de l'hôte sont vraisemblablement minimaux. La direction prise par la sélection conduit donc à l'atténuation de la diversité des déterminants génétiques de l'hôte jouant un rôle décisif tant au niveau du degré d'infection qu'au niveau de la réponse à la colonisation mycorhizienne (Smith et al., 1992).

Il a été démontré que la dépendance mycorhizienne n'a cessé de diminuer dans tous les cultivars mis au point depuis 1950 (Harrier and Watson, 2003). Cela provoque une perte du potentiel des plantes à tirer un avantage de l'inoculation de CMA ou des pratiques culturales augmentant l'infectivité du sol. Notons également, que pour le maïs, il a été démontré que la sélection de variétés résistantes à des maladies fongiques montrent une plus grande inaptitude à la colonisation mycorhizienne (Plenchette et al., 2005).

#### **4.13. Produits phytosanitaires**

Bien que potentiellement délétère pour la population de CMA, l'effet des produits phytosanitaires varie selon la fréquence d'application et le type de matière active utilisée. Les effets peuvent dans certains cas être positifs (Plenchette et al., 2005), notamment via la suppression d'organismes antagonistes (Bethlenfalvay, 1993). L'effet sur les CMA peut être direct via par exemple des modifications sur la croissance des plantes ou le métabolisme des CMA. Il peut aussi être indirect via les conséquences des applications sur la vie des micro-organismes non mycorhiziens du sol (Bethlenfalvay, 1993). Toutefois, les fongicides semblent avoir plus d'effet quant ils agissent sur une population de propagules n'ayant pas encore infecté la racine (Plenchette et al., 2005).

#### **4.14. Labours et travaux du sol**

Les effets du labour et d'autres travaux du sol affectant la structure peuvent être analysés selon trois niveaux.

-Le mycélium extra racinaire associé aux racines de la culture précédente, actif dans l'absorption de phosphate, est altéré par le labour ; un nouveau mycélium doit être créé à partir des racines nouvellement colonisées. Par contre un sol non perturbé contient un réseau mycélien fonctionnel dès l'établissement d'une connexion avec le nouveau système racinaire. Après le travail du sol, l'étendue du réseau mycélien et par conséquent le niveau de Phosphore dans la plante seront inférieurs dans les phases précoces de croissance (McGonigle and Miller, 2000).

-Le labour affecte également la distribution et la densité d'inoculum, il ramène en surface des couches profondes du sol, et inversement, enfouit en profondeur les propagules disponibles dans les couches superficielles. Cela conduit donc une diminution de la densité dans les quelques premiers centimètres du sol, ce qui peut donner lieu à des différences de colonisation mycorhizienne et de croissance végétale lorsque le système racinaire n'est pas encore très bien développé. Cela a, par exemple, été constaté pour le maïs jusqu'au stade six feuilles (McGonigle and Miller, 2000).



-Notons finalement que le labour est susceptible d'exercer une intense pression de sélection sur la communauté de CMA (Douds Jr. et al., 1995).

#### **4.15. Fertilisants**

Comme vu précédemment (Biodisponibilité en Phosphore p17), le P disponible pour la plante influence la colonisation mycorhizienne et la réponse de l'hôte à celle-ci. Notons que des sols fertilisés, riches en P, peuvent avoir un pouvoir fixateur tel, qu'une très petite fraction du Phosphore total est réellement disponible pour la plante (Plenchette et al., 2005), le reste étant adsorbé et complexé dans la matrice du sol (Rengel, 2002). Dans ces types de sol, même sous une agriculture très demandeuse en intrants le potentiel des symbioses mycorhiziennes est de taille, leur maintien est donc totalement justifiable.

Lorsque la fertilisation est intense, l'indépendance des plantes vis-à-vis de la mycorhization tend à diminuer drastiquement la diversité des CMA en sélectionnant dans la population les espèces de CMA capables d'infecter le système racinaire malgré les changements physiologiques occasionnés chez l'hôte (Sieverding, 1990).

#### **4.16. Gestion des mauvaises herbes**

La présence d'espèces végétales non cultivées sur une parcelle nue ou contenant une culture non-mycotrophe peut contribuer au maintien d'un certain niveau de propagules de CMA dans le sol (Harrier and Watson, 2003). Un faible degré de contrôle de mauvaises herbes dans les épisodes culturaux exempts de CMA peut jouer un rôle clé dans l'atténuation des effets négatifs sur la culture suivante. La gestion des mauvaises herbes devrait donc, au lieu de rechercher leur élimination totale, chercher à maintenir les « passerelles mycorhiziennes » à un niveau non préjudiciable pour le rendement tout en maximisant les bénéfices agro-écologiques fournis par leur communauté.

Rappelons enfin que la diversité fongique est liée à la diversité végétale, une gestion moins stricte du désherbage peut donc contribuer à une population diversifiée de CMA (Douds Jr et al., 2005).

#### **4.17. Chaulage ou gestion du pH**

L'ajout d'amendements modifiant le pH du sol donne lieu à des réponses différentes selon les espèces de CMA. Une expérience réalisée par Wang et al. en 1984 (dans Abbott and Robson, 1991), a démontré que le chaulage d'un sol modifiant son pH de 4,5 à 7,5 n'affecte pas le taux de mycorhization mais modifie les espèces de CMA impliquées.

#### **4.18. Particularités de la culture bananière**

Peu d'études à ce sujet existent pour la culture bananière, il est toutefois très probable que la mycorhization du bananier soit influencée par les mêmes contraintes que celles vues plus haut pour l'ensemble des systèmes agraires (Adriano-Anaya et al., 2006).

Cependant, l'attention doit être portée sur une particularité de cette culture. En raison des contraintes de multiplication de ce végétal, les phases de croissance de chaque plante, bien que synchrones lors du début de la plantation, atteignent des degrés d'hétérogénéité croissants au fur et à mesure des générations. Au vu des considérations sur les liens entre phénologie et mycorhization, les stades de croissance sont décisifs pour le taux de colonisation racinaire par des CMA et la quantité de propagules subséquentement produites. Ils doivent donc être pris en compte dans l'estimation des effets des pratiques agricoles sur les CMA (Adriano-Anaya et al., 2006). A titre de

comparaison, les cultures de céréales à cycle de vie court (4-6 mois) sont composées de plantes croissant de manière simultanée et pour lesquelles l'influence des phases phénologiques est confondue à celle des pratiques agricoles (Adriano-Anaya et al., 2006).

## **5. L'effet des caractéristiques édaphiques**

### **5.19. L'eau**

Les CMA sont aérobies, leur métabolisme requiert de l'oxygène. Des sols saturés en eau sont donc préjudiciables aux CMA. Adriano-Anaya et al. (2006) ont observé un niveau de colonisation racinaire minimal à la fin de la saison des pluies (en septembre aux Chiapas, Mexique). Les pluies peuvent également interagir avec les phytosanitaires présents sur les structures caulinaires des plantes en augmentant par ruissellement la concentration de ces derniers dans le sol et causer ainsi des pertes dans la population de CMA (Adriano-Anaya et al., 2006). Ils ont émis l'hypothèse que cette baisse de colonisation serait également due au ruissellement augmentant la concentration de phytosanitaires dans le sol.

### **5.20. Propriétés chimiques du sol**

Les drastiques modifications physico-chimiques des sols inhérentes aux pratiques culturales ont, comme vu précédemment, une influence décisive sur les mycorhizes. La dynamique de ces changements est cependant très importante. La présence de CMA dans tous les types de sols naturels s'explique par une grande diversité de souches et d'espèces de CMA. L'effet du sol sur l'abondance et la distribution de chaque souche est très variable (Abbott and Robson, 1991). Dans des sols non cultivés où l'environnement est stable ou en lente évolution, la sélection naturelle agit en retenant les CMA les plus adaptés. De sorte qu'il y a peu de corrélation entre le taux de mycorhization et les différents types de sols naturels. En résumé, si les changements sont assez lents pour permettre une adaptation progressive de la population, et s'ils s'appliquent sur une large diversité génétique, les différences de propriétés physicochimiques du sol agissent plus qualitativement que quantitativement sur la population de CMA. (Abbott and Robson, 1991).

# Cinquième Partie : Le potentiel infectieux mycorrhizogène du sol

---

Le concept de potentiel infectieux a été développé par Bouhot et Joannes (1979) pour l'étude de l'infection de végétaux par des organismes pathogènes. Celui-ci a été étendu aux champignons mycorrhiziens à arbuscules (CMA) par Plenchette et al (1989).

Cependant, un aperçu de la littérature montre une terminologie variée autour de ce concept. Afin de clarifier la situation, la section suivante comporte les définitions des principales notions rencontrées.

## 1. Un aperçu de la terminologie

-Propagule infectieuse<sup>3</sup> : organe ou tissu de CMA, germinatif ou végétatif, inclus ou non dans un tissu végétal, capable d'initier une nouvelle colonisation racinaire. Les types de propagules infectieuses sont présentés dans la première partie « les champignons mycorrhiziens à arbuscules.

-Potentiel infectieux : Il équivaut à l'énergie de croissance d'une propagule infectieuse, mise à disposition dans le processus d'infection d'un hôte, lorsque cette propagule est à la surface de l'organe à infecter (Daniels and Skipper, 1982).

-Nombre de propagules Infectieuses ou potentiel d'inoculum (Daniels et al., 1981) : Il équivaut au potentiel d'infection d'une population de CMA, déterminé par les deux notions ci-dessus, à savoir, le nombre de propagules infectieuses et leur potentiel infectieux.

- Potentiel infectieux mycorrhizien d'un sol : Habilité d'un sol contenant des propagules de CMA à initier la colonisation de plantes hôtes. Ce concept englobe le concept de nombre de propagules infectieuses (ou potentiel d'inoculum), mais aussi les interactions pouvant avoir lieu entre les CMA et les composantes biotiques et abiotiques de l'environnement hôte-sol (Plenchette et al., 1989).

## 2. Méthodes d'estimation

Il existe aujourd'hui cinq méthodes permettant d'estimer le potentiel mycorrhizogène d'un sol (Utobo et al., 2011). Le choix de la technique dépendra avant tout de la question posée par l'expérimentateur. En effet, ces techniques fournissent des informations différentes et ont des avantages et limites propres. Les deux premières méthodes reposent sur l'observation des phases extraracinaires tandis que les trois dernières se basent sur les phases intraracinaires.

### 2.1. Enumération des spores

Il existe plusieurs protocoles d'isolation des spores présentes dans le sol basés sur les principes physiques de tamisages en série et de centrifugation d'une solution aqueuse du sol analysé (An et al. (1990), Adelman et Morton (1986)). Les spores isolées sont ensuite comptées au microscope optique.

---

<sup>3</sup>Définition réalisée par l'auteur à partir des données compilées sur le cycle infectieux des CMA (section...)

Notons également qu'un processus d'identification peut être subséquent initié, offrant ainsi une estimation de la composition de la population de CMA, en plus de l'aspect quantitatif. Cependant, cette estimation peut être très pauvrement corrélée au potentiel infectieux du sol (Fischer et al., 1994), et ce, pour différentes raisons : (i) Les spores ne sont pas les seules propagules capables de coloniser le système racinaire ; certaines espèces d'AMF réalisent l'entièreté de leur cycle sans passer par la phase de sporulation, tandis que d'autres n'en produisent qu'en très petite quantité (Utobo et al. 2011). (ii) Il est difficile de déterminer la viabilité des spores comptées, certaines peuvent être mortes ou en dormance. (iii) l'isolation par tamisage ne fonctionne pas correctement pour toutes les spores, citons par exemple, *Glomus intraradices* produisant des spores intraracinaires (An et al., 1990).

## 2.2. Détermination de la biomasse mycélienne dans le sol

Les hyphes mycorhiziens croissant dans la matrice du sol sont les structures impliquées dans le prélèvement, la translocation et le transfert des nutriments du sol vers la plante. Leur quantification peut donc être utile dans l'évaluation des effets de la mycorhization sur la plante hôte (Jastfer et al. 1997 dans Utobo et al., 2011). Il existe de nombreuses barrières techniques, à savoir, la difficulté de différencier les hyphes mycorhiziens de la myriade d'autres hyphes présents dans les sols, la difficulté d'estimer la viabilité et l'activité de ces hyphes, ainsi que l'aspect très consommateur de temps de cette technique (Utobo et al., 2011). Toutefois des méthodes existent pour étudier la structure et la fonction des phases extra-racinaires (Leake et al. 2004 dans Declerck, 2011), que ce soit par l'extraction et l'observation des hyphes, l'observation in-vitro ou encore par des analyses biochimiques comme l'immunofluorescence pour la glomaline (Wright 2000 dans Leake et al. 2004), l'analyse par PCR (Hunt et al. 2004 dans Leake et al. 2004) ou bien l'analyse des acides gras composant les phospholipides membranaires (Olsson et al. 2003 dans Leake et al. 2004).

## 2.3. Comptage d'unités d'infection (Infection-Unit Method, IUM)

La technique consiste à compter, sur un nombre déterminé de racines, le nombre d'appressoria. Ces structures représentent la phase initiale de la colonisation du cortex racinaire (Figure 6 Photographie au microscope optique (40X) d'une racine de *Medicago truncatula* colonisée par un CMA. Le point d'infection se trouve à l'arrière-plan. Réalisée par l'auteur, avril 2012). Cette technique a été développée par Bethlenfalvay et Franson (1989). A l'instar de la technique du PIM (2.5 p.33), cette technique est basée sur la relation dose-réponse entre la quantité de sol analysé et l'intensité d'appressoria produits sur une plante-test.

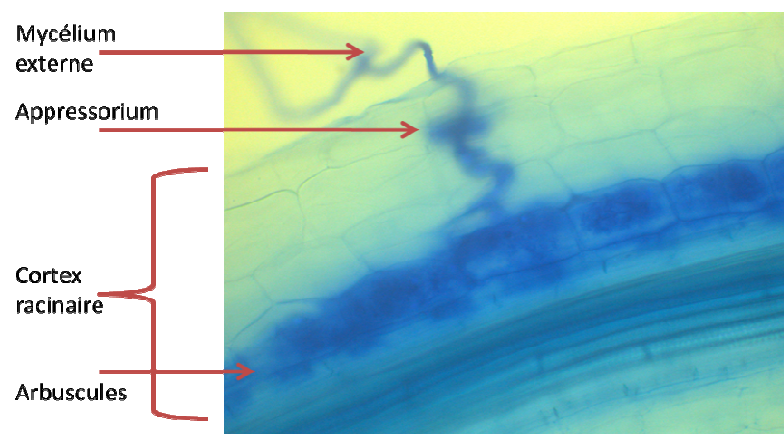


Figure 6 Photographie au microscope optique (40X) d'une racine de *Medicago truncatula* colonisée par un CMA. Le point d'infection se trouve à l'arrière-plan. Réalisée par l'auteur, avril 2012

## 2.4. La méthode du « Most Probable Number » (MPN)

### 2.4.1. Théorie de base

La technique du MPN a été développée dans les années cinquante pour estimer les populations de micro-organismes (essentiellement bactéries et levures) dans l'eau et les laitages (Cochran, 1950). Porter (1979) fut le premier à adapter cette méthode à l'étude du potentiel mycorhizogène du sol.

La méthode consiste à réaliser des dilutions successives du substrat à évaluer, avec un substrat (identique ou standard) stérile. Les dilutions sont ensuite placées dans des pots et une plante mycotrophe est mise en croissance sur celles-ci.

Après un temps de croissance suffisant (généralement 6 semaines), chaque système racinaire est récolté et coloré. La présence (test positif) ou l'absence (test négatif) de mycorhize est ensuite évaluée sous microscope. Pour chaque dilution, la proportion d'échantillons positifs par rapport au nombre total d'échantillons observés fera l'objet d'une analyse statistique que nous détaillerons ci-dessous. Le résultat, aussi appelé MPN (Most Probable Number) est une estimation par maximum de vraisemblance du nombre de propagules infectieuses par poids de sol testé (Cochran, 1950).

Le MPN repose sur deux postulats de base :

- 1) Une distribution aléatoire des propagules infectieuses, afin que deux fractions de même taille du même milieu contiennent la même quantité de propagules, et que celles-ci n'interagissent pas entre-elles par des phénomènes d'attraction ou de répulsion (Cochran, 1950)
- 2) L'expressivité d'une seule propagule, afin que tout échantillon contenant au moins une propagule puisse donner un résultat positif (Cochran, 1950). Cela implique aussi que le micro-organisme, dont la population est à déterminer, soit toujours identifiable après avoir subi une multiplication dans le milieu (Alexander, 1982).

### 2.4.2. Etude statistique

#### 4.2.1. Cas particulier, une seule dilution.

Prenons un sol contenant une densité  $d$ , de propagules infectieuses par gramme de sol. Soit, un échantillon de ce sol ayant un certain volume  $v$  (ml). On réalise un bio-test sur  $n$  échantillons de même volume  $v$ , à la suite duquel on détermine  $t$ , le nombre d'échantillons stériles.

La probabilité  $P$  d'obtenir  $s$  échantillons stériles parmi les  $n$  échantillons testés pour  $\delta$  une densité quelconque de propagules, est donnée par la formule suivante (Cochran, 1950) :

$$P = \frac{n!}{t!(n-t)!} e^{-v\delta t} (1 - e^{-v\delta})^{n-t}$$

Ce type de fonction possède un unique maximum,  $v$  et  $n$  sont déterminés par l'expérience conduite, et  $t$  est le résultat du bio-test, ces trois paramètres sont fixés. La densité  $\hat{d}$  qui estime la densité réelle  $d$ , s'obtient par la maximisation de la fonction ci-dessus. En d'autres termes, il s'agit de la méthode du maximum de vraisemblance ; l'on recherche la densité  $\delta$  qui possède la plus grande probabilité de donner les résultats obtenus lors de l'expérience.

En pratique cependant, le volume  $v$  choisi risque de donner des échantillons tous fertiles ( $t/n = 0$ ), ou tous stériles ( $t/n = 1$ ) ; les densités estimées seront dès lors respectivement infinies ou nulles. L'estimation MPN est alors de piètre précision. C'est pourquoi nous avons recours à plus d'une dilution, c'est-à-dire à différents volumes  $v$  de sol testé, choisis de façon à ce qu'au moins un de ces volumes puisse contenir un nombre de propagules ne donnant pas des échantillons tous fertiles ou tous stériles. Il a été établi que les dilutions dans lesquelles le nombre de propagules par pot est proche de 1 apportent la majorité des informations pour l'estimation du MPN (Fisher and Yates, 1949).

#### 4.2.2. *Le cas de plusieurs dilutions*

Soit un volume de sol réparti par  $s$  dilutions successives en une série de  $s$  volumes différents. Soit  $a$ , le ratio de dilution choisi de telle sorte que chaque dilution est «  $a$  » fois plus diluée que la dilution précédente. Pour chaque dilution  $i$ , il y a  $n_i$  échantillons de volume  $v_i$  testés, pour lesquels on a déterminé  $s_i$  échantillons stériles. Le MPN estimé, à savoir, la densité  $\hat{\delta}$  qui maximise la probabilité d'occurrence des résultats obtenus pour les  $x$  dilutions s'obtient par l'équation suivante (Cochran, 1950) :

$$\sum_{i=1}^s t_i v_i = \sum_{i=1}^s \frac{(n_i - t_i) v_i e^{-v_i \hat{\delta}}}{1 - e^{-v_i \hat{\delta}}}$$

La complexité de la résolution analytique de cette équation nous tourne vers les tables de Fisher et Yates (1949) (Annexe 3) qui ont le grand intérêt de présenter les solutions pour une large gamme de ratios de dilutions et de nombres de dilutions. Notons toutefois que ces tables n'utilisent pas exactement la même estimation. Les auteurs suggèrent en effet que 87,7% de l'information est contenue dans  $X$  et  $Y$  (les nombres totaux d'échantillons fertiles et stériles), sans tenir compte du niveau de dilution dans lesquels ils occurrent. Ils estiment  $\hat{\delta}$ , la valeur pour laquelle le nombre moyen de stériles espérés est égal au nombre observé selon l'équation suivante (Fisher and Yates, 1949):

$$\frac{Y}{n} = \sum_{i=1}^s e^{\left(\frac{-\hat{\delta}}{a^{i-1}}\right)}$$

Cette modification ne semble cependant pas altérer la précision de l'estimation par rapport à la méthode de Cochran, dans les gammes de nombre de répétitions, ratios et nombres de dilutions présentés dans les tables (Cochran, 1950).

#### 4.2.3. *Le choix du plan expérimental*

Le choix d'un plan expérimental bien adapté à la question posée permet de maximiser la précision de l'estimation. Le nombre total d'échantillons testés doit premièrement être déterminé en fonction des moyens dont dispose l'expérimentateur ; par après, le degré de précision de l'estimation peut être amélioré par les choix du nombre de répétitions, de dilutions, et le facteur de dilution. En effet, le logarithme de MPN estimé suit une distribution proche de la loi normale, son écart-type ( $\sigma$ ) est donné par la formule suivante (Cochran, 1950) :

$$\sigma = 0,55 \sqrt{\frac{\log a}{n}}$$

### 2.3.1. -Les valeurs des dilutions minimales et maximales.

Cochran(1950) suggère qu'endéans une certaine gamme de densités de propagules, l'erreur de l'estimation est toujours égale à une certaine proportion de la densité estimée, la technique du MPN possède donc une précision qui ne dépend pas de l'estimation. Le choix des dilutions maximales et minimales sert donc à déterminer  $\delta_L$  et  $\delta_H$ , les densités minimales et maximales, entre lesquelles l'estimation est assez précise. Les dilutions doivent être choisies afin qu'entre  $v_H$ , le volume maximum et  $v_L$ , le volume minimum, il y ait un volume dont la quantité de propagules par pot équivaille ou soit proche de 1 (Fisher and Yates, 1949).

$$\delta_H v_L < 1 < \delta_L v_H$$

### 2.3.2. -Le choix du ratio de dilutions :

Pour un même nombre total d'échantillons ( $n \times s$ ), l'écart type exprimé en pourcentage de la densité estimée (ou écart-type relatif), est légèrement plus faible pour les petits ratios. De plus, les grands ratios de dilutions (cinq et plus) présentent des fluctuations dans l'écart-type relatif en fonction de la densité estimée. Ce résultat est logique, pour un petit ratio de dilution, l'information utile est contenue dans un plus grand nombre d'échantillons. En conséquence, même si cela requiert plus de main-d'œuvre, il est plus avantageux d'utiliser un petit ratio de dilution.

### 2.3.3. -Le nombre de répétitions :

Augmenter le nombre de répétitions améliore la précision du test, cependant ce choix doit résulter d'un compromis avec les contraintes des deux sections précédentes.

En résumé, l'expérimentateur doit déterminer un intervalle de densités possibles à explorer, fixer un nombre total d'échantillons acceptable, puis choisir les ratios et les répétitions qui améliorent la précision.

### 2.4.3. Facteurs influençant les résultats du test

Le sol, milieu plus complexe qu'un liquide, abrite des nombreuses interactions hôte-pathogène ; ajoutons à cela la non-spécificité des AMF (Adelman and Morton, 1986). Cela fait qu'il existe une vaste gamme de facteurs conditionnant la formation, à partir d'une propagule quelconque, d'une mycorhize identifiable par l'observateur. Dès lors, les conditions permettant à une seule propagule de se développer jusqu'à ce que sa présence soit identifiable, ne sont pas aussi favorables que celles permettant le développement d'une colonie bactérienne à partir d'une seule cellule dans une gélose (Maloy and Alexander, 1958; Wilson and Trinick, 1983). Par conséquent, le deuxième postulat du MPN n'est pas respecté.

Une marge d'erreur supplémentaire, liée à la probabilité qu'un organisme parvienne jusqu'à la racine et y établisse une symbiose mycorhizienne, devrait être ajoutée aux intervalles de confiance de cette technique. Seulement, l'estimation de ce facteur n'est pas possible car elle reposerait sur une autre méthode fiable d'estimation du nombre propagules. De ce fait, le MPN lorsqu'il est réalisé sur des AMF, n'est pas un indicateur de la population totale de propagules, mais indique le nombre de propagules infectieuses (Porter, 1979) dans les conditions expérimentales données, pour un

ensemble sol-hôte-conditions biotiques et abiotiques. Un système standardisé doit donc être mis au point afin que cette marge d'erreur supplémentaire demeure constante (Wilson and Trinick, 1983).

Voici un aperçu des différents paramètres de l'expérience et de la manière dont ils sont susceptibles de modifier le résultat.

#### **4.3.1. Préparation des sols**

Le temps et les conditions (température, humidité) de conservation et de séchage du sol, ainsi que le processus d'homogénéisation et de tamisage doivent être standardisés et précautionneusement respectés.

Ceux-ci vont influencer le nombre et la variabilité des propagules (Utobo et al., 2011). La résistance d'une propagule à ces opérations dépend également de son type (spore, fraction de racine mycorhizée, mycélium externe) (McGraw and Hendrix, 1986). Chaque espèce d'AMF produit ces diverses propagules infectieuses en proportion différente.

La première étape du MPN, à savoir l'extraction du sol et sa préparation conduit donc à un biais dans l'estimation en affectant inégalement la viabilité des propagules selon leur type. En d'autres termes, deux sols possédant initialement le même potentiel infectieux risquent de donner des résultats différents lorsque les populations d'AMF qu'ils abritent sont qualitativement différentes.

Ce biais peut aller dans le sens de la sous-estimation, en affectant négativement la viabilité de certaines propagules, ou encore dans le sens inverse, comme pour des sols contenant beaucoup de mycélium, son homogénéisation pouvant conduire à une surestimation du potentiel infectieux, via la fragmentation des hyphes (Wollum, 1982).

#### **4.3.2. Choix de la plante-hôte**

D'un point de vue technique, la plante utilisée doit être hautement sensible à la colonisation des AMF, et avoir un développement racinaire rapide (Utobo et al., 2011)

Mais le choix de la plante hôte soulève une question méthodologique divisant certains auteurs. En effet, sont souvent choisies comme plantes-test des espèces répondant bien aux exigences techniques de l'expérience, telles que le poireau, *Allium porrum* L. (Declerck et al., 1996), le millet, *Pennisetum americanum* L. (Saint-Etienne et al., 2006), le sorgho, *Sorghum bicolor* L. (Adelman and Morton, 1986) la luzerne, *Medicago truncatula* (Porter, 1979), ou encore le soja, *Glycine max* L. (An et al., 1990).

L'estimation purement quantitative du nombre de propagules infectieuses donnée par le MPN sous-tend une grande complexité d'interactions écologiques liées à l'aspect qualitatif de la communauté de CMA présente dans le sol. En s'intéressant à la composition de la population, An et al. (1990) ont montré l'influence de l'hôte sur la communauté endogène d'AMF ; ainsi une espèce d'AMF voit son effectif décupler entre deux tests réalisés avec deux hôtes distincts.

De plus Adelman et Morton (1986) montrent que le MPN estimé mais aussi l'intensité et le pourcentage de la colonisation sont supérieurs lorsque la plante test utilisée existe en grande proportion dans les conditions d'origine du sol étudié. La méthode MPN estime donc mieux le potentiel infectieux d'un sol lorsque les conditions expérimentales correspondent aux conditions de



la parcelle de provenance. Cela permet l'expression d'un maximum de facteurs conditionnant les différentes étapes de l'établissement de la symbiose (Adelman and Morton, 1986)

Encore une fois, ces affirmations mettent en avant le fait que le MPN est uniquement valable pour la situation expérimentale donnée, et est difficilement extrapolable à des conditions différentes. Le déterminant principal du choix de l'hôte devient dès lors la question posée par l'expérimentateur, même s'il est difficile de s'affranchir des contraintes techniques nécessaires à l'expérience.

#### **4.3.3. *Longueur de l'essai et température***

Le temps de croissance des plantes hôtes doit être suffisant pour :

Primo, permettre au système racinaire d'explorer l'entièreté du substrat sous influence des propagules. En effet, les propagules infectieuses sont immobiles et leur croissance est limitée (Wilson and Trinick, 1983) ; l'établissement d'une symbiose mycorhizienne demande donc que le rhizoplan atteigne la zone d'influence de chaque propagule (Daniels et al., 1981; Adelman and Morton, 1986). C'est donc une condition nécessaire afin que toute propagule présente dans le substrat soit susceptible d'infecter la racine. Le temps de croissance doit donc être réfléchi en fonction de l'espèce utilisée et du volume du substrat.

Deuxièmement, le temps des plantes hôtes doit être suffisant pour faciliter l'identification des CMA dans les racines, car un état avancé de développement mycorhizien donne lieu à des structures plus facilement identifiées.

Troisièmement, la variation temporelle du potentiel mycorhizogène du sol résultant de phénomènes de dormance et de viabilité des propagules (Bethlenfalvay and Franson, 1989), doit être comprise dans le test. D'autre part, le temps de croissance doit être limité car le système racinaire doit avoir une taille raisonnable étant donné que l'observation porte sur l'entièreté de celui-ci.

La température, tout comme la durée de la phase de croissance, affecte les résultats de l'estimation à travers son influence sur la croissance des racines et des propagules d'AMF (Wilson and Trinick, 1983). La maîtrise et la standardisation de ce facteur, afin qu'il soit le plus proche possible des optima de croissance des hôtes et des champignons (Wilson and Trinick, 1983), est donc de mise pour l'utilisation des MPN dans un but comparatif.

#### **4.3.4. *Choix du substrat diluant***

Bien que l'on trouve dans la littérature l'utilisation de substrats minéraux stériles (Daniels et al., 1981; An et al., 1990; Fischer et al., 1994), certains auteurs (Adelman et Morton 1986; Utobo et al. 2011), affirment que l'on obtient de meilleurs résultats en utilisant comme diluant l'échantillon original stérilisé. Cela s'explique par la meilleure expression des propagules lorsque les conditions expérimentales et initiales correspondent (Adelman and Morton, 1986).

Cependant, la stérilisation par autoclavage peut conduire à la libération de molécules organiques responsables d'une phytotoxicité du substrat, diminuant sensiblement la croissance des racines primaires d'une fabacée (*Trifolium repens*) (Rovira and Bowen, 1966). Notons qu'il existe des moyens de détoxification (voir section discussion des résultats), et d'autres techniques de stérilisation comme l'irradiation aux rayons gamma (Declerck et al., 1996)

#### **4.3.5. *Limites liées à l'observation***

Les CMA n'induisent pas de changements anatomiques observables dans la racine. L'observation de la mycorhization doit se faire via l'observation des différentes structures produites par les CMA à l'intérieur et autour de la racine.

Cette étape dépend grandement de l'habitude et du niveau d'expérience de l'observateur, la difficulté réside dans le fait que l'entièreté du système racinaire doit être observée afin de confirmer la présence/absence de colonisation.

### **2.5. La méthode du potentiel infectieux mycorhizien (PIM)**

Une méthode développée par Plenchette et al. (1989) permet d'estimer le potentiel infectieux mycorhizien grâce à un bio-test réalisé sur une population de plantes et basé sur une relation dose-réponse selon les travaux de Finney ((1979) dans Plenchette et al., 1989).

#### **2.5.1. Théorie de base**

Le principe de base repose sur la croissance, non pas d'une seule plante à l'instar du MPN, mais d'une population de plantes-hôtes (dix, en général) sur une gamme de concentrations de sol étudié, et ce dans des conditions environnementales contrôlées. Chaque système racinaire est ensuite récolté et évalué séparément selon la présence ou l'absence de mycorhization.

Le pourcentage de plantes mycorhizées pour chaque dilution de sol est représenté sur un graphe en fonction du logarithme de la concentration du sol étudié. Cette relation, linéaire dans une certaine gamme de concentration peut être estimée par une droite de régression. L'infectivité du sol est ensuite exprimée en unités  $PIM_{50}/100$  grammes de sol.

Une unité  $PIM_{50}$  (pour potentiel infectieux mycorhizogène) est définie comme la concentration de sol nécessaire à la mycorhization de 50% de la population de plantes (Plenchette et al., 1989). Pour une meilleure comparaison, les résultats peuvent être présentés en nombre d'unités  $PIM_{50}$  par 100 grammes de sol.

#### **2.5.2. Facteurs influençant les résultats du test**

##### **5.2.1. *Durée de croissance***

Afin que la technique du PIM estime correctement le potentiel infectieux du sol, l'expérimentateur doit s'assurer que le temps de croissance ne permet pas l'apparition d'infections secondaires, de cette manière, toute AMF colonisant un système racinaire provient du sol et non pas d'une plante voisine.

Plenchette et al. (1989) réalisèrent un test préliminaire afin de déterminer la durée idéale dans leurs conditions expérimentales, le temps de croissance idéal calculé est de 14 jours. Il fut utilisé dans les PIM subséquemment relatés dans la littérature (Declerck et al., 1996; Plenchette, 2000)

##### **5.2.2. *Choix de la plante-hôte***

Malgré une très courte durée de croissance, pendant laquelle la plante se nourrit principalement des réserves énergétiques de la graine, des différences notables de croissance racinaire s'observent entre des sols présentant des caractéristiques physico-chimiques différentes (Plenchette et al., 1989).

Ne dépendant pas des mêmes postulats de base que la technique du MPN, l'exploration totale du sol par les systèmes racinaires n'est pas une condition sine qua non à la validation des résultats. Toutefois, la comparaison des potentiels infectieux de différents sols par la technique du PIM nécessite une certaine uniformité dans les volume racinaires (Plenchette et al., 1989). En effet, comme vu précédemment, le développement du système racinaire est déterminant pour la rencontre et donc l'infection des propagules d'AMF (Adelman and Morton, 1986).

L'estimation du PIM demande donc une plante dont la croissance racinaire (du moins dans les premiers stades) est indépendante des caractéristiques physico-chimiques du sol. L'hôte choisi doit donc disposer d'une bonne quantité de réserves dans la graine, posséder une grande adaptabilité aux différents types de sol et être indépendant d'autres organismes symbiotiques comme les rhizobium (Plenchette et al., 1989). Le poireau (*Allium porrum* L.) possède toutes ces caractéristiques.

### 5.2.3. *Ecarts à la linéarité*

La détermination du  $PIM_{50}$  nécessite une relation linéaire entre la dose (pourcentage de sol non stérile) et la réponse (pourcentage de plantes mycorhizées), une linéarisation de la courbe est possible en exprimant la dose de sol non stérile en données logarithmiques (Bouhot and Joannes, 1979). Les valeurs extrêmes doivent cependant être enlevées. Ainsi, les trop faibles concentrations ne donnant lieu à aucune mycorhization doivent être ôtées de la droite de relation, ces points correspondant à l'absence de réponse n'offrent en effet aucune information pertinente sur l'évolution de celle-ci.

De plus, d'un point de vue écologique, l'existence d'interactions entre les CMA ou avec les autres organismes du sol, font qu'une solution très concentrée en sol non-stérile, proche de 100% présente une relation dose-réponse complexe. Et le choix du plan expérimental et le nombre d'échantillons utilisés n'est pas adapté à l'estimation de cette complexité (Plenchette, 2000). Cela justifie la non prise en compte des concentrations de 100%

## 3. **Comparaison entre MPN et PIM**

Toutes les différences abordées plus haut nous permettent d'affirmer que la méthode du PIM est intéressante pour la brièveté de son temps de croissance. Au-delà de ces considérations, il est nécessaire de mettre l'accent sur deux aspects séparant les deux expériences, et qui portent à croire que le PIM est un meilleur estimateur que le MPN.

Niveau de dilutions : Les concentrations très faibles de sol étudié utilisées dans la méthode MPN permettent moins que la méthode du PIM de prendre en compte les éventuelles compétitions existant entre les AMF et le reste de la microflore initialement présente dans le sol. Le mélange au sol stérile représente pour les microorganismes du sol une augmentation d'espace colonisable, diminuant considérablement leur densité et donc leurs interactions (Bouhot and Joannes, 1979). Le potentiel infectieux est une manifestation de l'état d'équilibre des organismes interagissant ensemble ; il est donc modifié par l'ajout de sol stérile (Bouhot and Joannes, 1979).

Inférences mathématiques : Le modèle mathématique à la base de la méthode de détermination des PIM, constitué de relations doses-réponses est à la fois plus précis et sensible que la détermination indirecte par maximum de vraisemblance utilisée dans la méthode MPN (Plenchette et al., 1989).

Toutefois, cette brièveté comporte un désavantage majeur : la trop courte période de croissance ne permet pas de prendre en compte les variations temporelles du potentiel infectieux existant dans les conditions de terrain, causées par des phénomènes de dormance ou de durée de vie limitée des propagules (Bethlenfalvay and Franson, 1989).

Pour conclure, aucune méthode actuellement existante ne permet de déterminer le potentiel infectieux de mycorhization pour un écosystème donné, à savoir, pour une situation précise caractérisée par les conditions édaphiques, climatiques et biologiques. Aujourd'hui, seule l'estimation de ce potentiel est possible. MPN et PIM sont des techniques très exigeantes en temps et en espace, mais ont pour avantage de fournir un seul résultat chiffré, permettant de comparer entr'eux le nombre de propagules infectieuses de différents sols.

# Chapitre deux : Matériel et Méthodes

# Préambule : Contexte de l'étude

---

Ce mémoire a été réalisé sur l'ensemble de l'année académique 2011-2012, Durant le premier quadrimestre, à l'UCL, nous nous sommes familiarisés avec les méthodes d'estimation des densités de population des CMA et avons et avons affiné les dispositifs expérimentaux. Au second quadrimestre nous avons mené les expériences sur le terrain au PRAM (Pôle de Recherche Agro-écologique Martinique), centre de recherche regroupant 4 organismes, le CIRAD (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement), l'IRD (Institut de recherche pour le développement), l'INRA (Institut National de Recherche Agronomique) et le Cemagref (Institut de recherche pour l'ingénierie de l'agriculture et de l'environnement).

## 1. Premier Quadrimestre à l'UCL

Les MPN et les PIM sont des expériences souvent relatées dans la littérature scientifique, cependant les protocoles détaillés son inexistant. Chaque laboratoire réalisant ces tests, le fait d'une manière propre, tout en respectant un certain nombre de principes qui sont liés à la théorie des deux méthodes (section « revue bibliographique »). Chaque expérimentateur développe ses propres techniques pour optimiser les principales contraintes de ces expériences, à savoir : La gestion des contaminations, la précision des de dilutions, l'optimisation du temps dans les manipulations, la gestion d'une grande quantité de matériel végétal et l'aptitude de l'observateur à trouver et reconnaître les structures mycorhiziennes.

Trois échantillons de sol issus de parcelles expérimentales de pomme de terre ont été considérés pour le travail au premier quadrimestre. Sur chaque échantillon, un MPN et un PIM ont été réalisés. Les contraintes citées plus haut ont toutes été rencontrées et contournées par essais-erreurs. Ce qui a permis l'élaboration d'un protocole rigoureux.

## 2. Deuxième Quadrimestre au PRAM

### 2.1. Contraintes dans la définition du cadre du travail

La première étape fut la définition du cadre du travail, celui-ci devait être construit de manière à satisfaire les exigences de chacun des encadrants stage, endéans la période de trois mois. Et ce, tout en respectant l'objectif préalablement fixé avec Stéphan Declerck, promoteur du travail, à savoir la comparaison des méthodes MPN et PIM d'estimation de la densité de propagules, dans des situations agronomiques et pédoclimatiques contrastées.

Une rapide mise en contexte des exigences formulées par chaque encadrant permettra au lecteur de mieux comprendre le cadre déterminé.

Patrick Quénéhervé (IRD) requérait L'estimation des potentiels mycorhiziens des sols de plantain, qui viendrait compléter une étude nématologique plus large réalisée sur ces sols.

Alain Soler (CIRAD) sollicitait l'estimation des potentiels d'infection mycorhiziens des sols d'Ananas dans le cadre d'une étude sur l'induction par des CMA de résistances systémiques induites (ISR) chez ses hôtes comme un moyen de lutte contre nématodes, cochenilles et symphytes (Soler et al., 2012)

## 2.2. Cadre du travail

Voici les quatre objectifs finalement fixés :

**-Objectif 1 :** Estimation du potentiel mycorhizien de six sols de parcelles d'ananas, avec deux méthodes MPN et PIM, et comparaison de deux méthodes.

**-Objectif 2 :** Récupération des données édaphiques des sols ananas prélevés, mise en relation de ces données avec les potentiels mycorhiziens estimés.

**-Objectif 3 :** Estimation du potentiel mycorhizien de cinq sols de parcelles de banane plantain avec la méthode MPN.

**-Objectif 4 :** Récupération des données édaphiques et agronomiques des parcelles bananes plantain analysées, mise en relation de ces données avec les potentiels mycorhiziens estimés.

Ces objectifs furent matérialisés par sept opérations, réparties dans le temps dans l'ordre suivant :

1. Echantillonnage et prélèvement de 6 sols sous culture ananas
2. Expérience 1 : réalisation du test MPN sur les 6 sols ananas
3. Expérience 2 : réalisation du test PIM sur les 6 sols ananas
4. Echantillonnage et prélèvement de 5 sols sous culture banane plantain
5. Enquêtes auprès le l'exploitant, récupération de données agronomiques des 5 parcelles plantain
6. Expérience 3 : réalisation du test MPN sur les 5 sols bananes plantain
7. Récupérations de données édaphiques et climatiques des 11 sols prélevés

La méthodologie du travail sera présentée selon trois grandes parties, à savoir : (i) L'estimation du potentiel mycorhizien des sols sous les deux cultures, (ii) La récolte de données édapho-climatiques des sols étudiés ; (iii) Le diagnostic des pratiques agricoles sur les parcelles étudiées.

# Première Phase : estimation du potentiel mycorhizien

## 1. Méthodes utilisées et plans expérimentaux

Les méthodes d'estimation des densités de propagules utilisées sont le MPN et le PIM. Leurs principes et les inférences statistiques sur lesquelles elles reposent ont été développés dans la revue bibliographique.

### 1.1. La méthode du MPN

Pour le MPN, le plan expérimental choisi est basé sur l'étude de Declerck et al (1999). Le facteur de dilution choisi est deux et le nombre de dilutions 12. Trois répétitions sont réalisées pour chaque sol. Dans chaque pot contenant une dilution, une plante piège est mise en croissance pendant une période de six semaines. Un pot supplémentaire ne contenant que du sol stérilisé est utilisé comme témoin (« T », Tableau 2). Ce témoin sert à vérifier le bon fonctionnement de la stérilisation. Cela donne un total de 37 plantes (Tableau 2).

### 1.2. La méthode du PIM

Le plan utilisé résulte d'une légère adaptation de la méthode proposée par Plenchette et al. (1989)<sup>4</sup>. En effet, les cinq concentrations utilisées sont différemment réparties (Tableau 2) par rapport aux dilutions préconisées par les auteurs, à savoir 1-3-10-30-100% de sol non stérile. Chaque concentration a été répétée trois fois, et un pot supplémentaire ne contenant que du sol stérile a servi de témoin (« T », Tableau 2). Chacun de ces 16 pots contenait 10 plantes a été mis en croissance pendant 14 jours.

Tableau 2: Résumé des plans expérimentaux utilisés pour MPN et PIM

Expérience	MPN			PIM		
Nombre de plantes par pot	1			10		
Plan expérimental	Dilution	Répétitions	Proportion de sol non stérile	Dilution	Répétitions	Proportion de sol non stérile (%)
	1	3	1 / 1	1	3	100
	2	3	1 / 2	2	3	30
	3	3	1 / 4	3	3	17,4
	4	3	1 / 8	4	3	10
	5	3	1 / 16	5	3	3
	6	3	1 / 32	T	1	0
	7	3	1 / 64			
	8	3	1 / 128			
	9	3	1 / 256			
	10	3	1 / 512			
	11	3	1 / 1024			
	12	3	1 / 2048			
	T	1	0			

<sup>4</sup> Soumise oralement par Stéphane Declerck lors d'un entretien avec l'auteur en octobre 2011



## **2. Matériel édaphique**

Les sols utilisés ont tous été prélevés sur des parcelles agricoles, entre février et mars 2012. Les sols numérotés de 1 à 6 proviennent de parcelles d'ananas, tandis que les sols 7 à 12 proviennent de parcelles de plantain. Le choix des parcelles d'ananas a été réalisé avec l'aide de A. Soler et de P.A. Marie-Alphonsine, sur base de parcelles suivies par - ou appartenant au - CIRAD. Le choix des parcelles de plantain a été réalisé avec l'aide de M. Godefroid, à partir d'une base de données qu'il a lui-même réalisé. L'objectif de l'échantillon choisi était qu'il englobe un maximum de diversité pédoclimatique et culturelle.

Les sols ont été collectés à quelques semaines d'intervalle, mais les cultures sur les différentes parcelles n'étaient pas synchrones, chaque sol prélevé correspond donc à un moment différent de l'itinéraire technique. Cette diversité devra être prise en compte lors de l'analyse des résultats.

### **2.3. Prélèvement des sols**

L'échantillonnage de la parcelle doit être réalisé de manière à englober adéquatement la variabilité existant au sein de l'unité étudiée (Wollum, 1982). Pour ce faire, à l'aide d'une truelle, environ 750 grammes (trois truellées) de sol ont été ramassés par point de prélèvement, après une rapide ablation de l'éventuelle couche végétale présente en surface. Les points ont été choisis aléatoirement mais répartis de manière uniforme, un ensemble d'une vingtaine de points ont été prélevés afin de constituer un stock de sol d'une quinzaine de kg.

Dans les sols d'ananas, les prélèvements ont été réalisés au sein de la ligne plantée, à égale distance de deux plantes, la sol a été récolté sur une profondeur de 0 à 15cm (An et al., 1990; Duponnois et al., 2001).

Pour les parcelles bananes plantain, l'hétérogénéité des phases de croissance implique un prélèvement au pied des plantes ayant le même stade phénologique. Le stade de développement correspondant à la présence de régime a été choisi. En effet, la littérature suggère que ce stade est optimal pour la colonisation racinaire et la sporulation des CMA (Adriano-Anaya et al., 2006). Les pelletées ont été effectuées à une distance de 50 à 70cm du pseudo-tronc, à une profondeur de 0 à 25cm (Declerck et al., 1999; Gaidashova et al., 2010).

### **2.4. Traitement des sols**

#### **2.4.1. Séchage**

Les sols récoltés ont été passés au gros tamis de maille 2cm, afin d'éviter la formation d'agglomérats et de faciliter le séchage. Ils ont ensuite été disposés sur un support préalablement désinfecté avec une solution commerciale d'eau de javel (9,6% de chlore actif).

Les sols, quotidiennement remués ont été séchés en serre à une température moyenne de 30°C pendant 6 à 8 jours. À partir de cette étape, toute manipulation engendre des poussières susceptibles de contaminer les sols voisins. Une précaution accrue est donc à prendre. Les sols ont été placés dans des cadres en bois et séparés par une distance de 2m.

Une fois secs, les sols ont été passés au tamis de maille 2mm afin d'obtenir un sol fin et homogène, adapté aux exigences des MPN et PIM. Les sols ont ensuite été stockés dans des sacs à autoclave doublés et hermétiquement fermés.

#### **2.4.2. Stérilisation**

Après séchage, une fraction de chaque sol a été stérilisée, par deux passages consécutifs à l'autoclave (1h, 121°C), espacés de 12 heures minimum (Adelman and Morton, 1986). Les sacs de sol issus de l'autoclave sont ensuite mis au repos pendant minimum deux jours à température ambiante, avant d'entamer le processus de dilutions.

#### **2.4.3. Dilutions**

Comme vu dans la revue bibliographique (p28), le modèle des dilutions diffère entre MPN et PIM, cependant pour les deux, le même mode récursif de dilutions est utilisé, où le résidu de chaque étape de dilution est l'intrant de l'étape suivante. A chaque étape, une attention particulière doit être portée aux facteurs suivants :

- L'homogénéisation des sols mélangés est déterminante pour la bonne conduite de l'expérience, d'autant plus que les dilutions sont faites en série. Pour ce faire, les mélanges sont réalisés dans un récipient en plastique souple (sac à autoclave par exemple) que l'on remplit d'air pour lisser les parois et qu'on agite vigoureusement pendant 30 secondes.
- L'absence de contaminations entre les différentes dilutions est évidemment essentielle. L'attention portée à ce point est d'autant plus grande que la réalisation des dilutions en série, contraint l'expérimentateur à commencer par le sol le plus concentré en propagules, ce qui l'empêche de respecter la règle de base qu'est d'utiliser les substances par ordre de potentiel infectieux croissant.
- La poussière créée par la manipulation des sols implique que les dilutions déjà préparées soient conservées dans une pièce différente de celle où sont réalisés les mélanges. Les ustensiles utilisés peuvent être un vecteur de propagules, c'est pourquoi ils doivent être constamment lavés et stérilisés à l'eau de javel entre chaque étape. L'utilisation d'un nombre adéquat d'ustensiles dans un ordre préétabli devient dès lors une façon incontournable d'économiser du temps.

#### **4.3.1. Dilutions MPN**

Les contenants utilisés pour le MPN pouvaient contenir une masse de 25 grammes de sol. Les récipients utilisés sont des multi-pots en plastique. Ceux-ci ont été découpés en un ensemble d'unités composées de six alvéoles (Figure 7). Chaque unité contient les trois répétitions de chaque dilution. Celles-ci sont placées en quinconce afin de minimiser la compétition pour la lumière. Afin de contenir le sol et d'éviter les contaminations entre répétitions (intra-dilutions), le fond troué de chaque alvéole a été recouvert d'un morceau de papier filtre avant le versement des sols. Une précaution supplémentaire est prise pour empêcher les contaminations entre dilutions : chaque unité de six alvéoles a été placée dans un contenant plat en plastique. Cela permet également d'optimiser la procédure d'arrosage par le bas.

Pour chaque sol, 13 dispositifs ont été réalisés. Ils ont été arrangés ensemble de façon à ce que chaque pot rempli de terre était entouré par des pots vides. Ce dispositif minimise les contaminations entre dilutions différentes, tout en rendant possible l'arrosage par le bas.

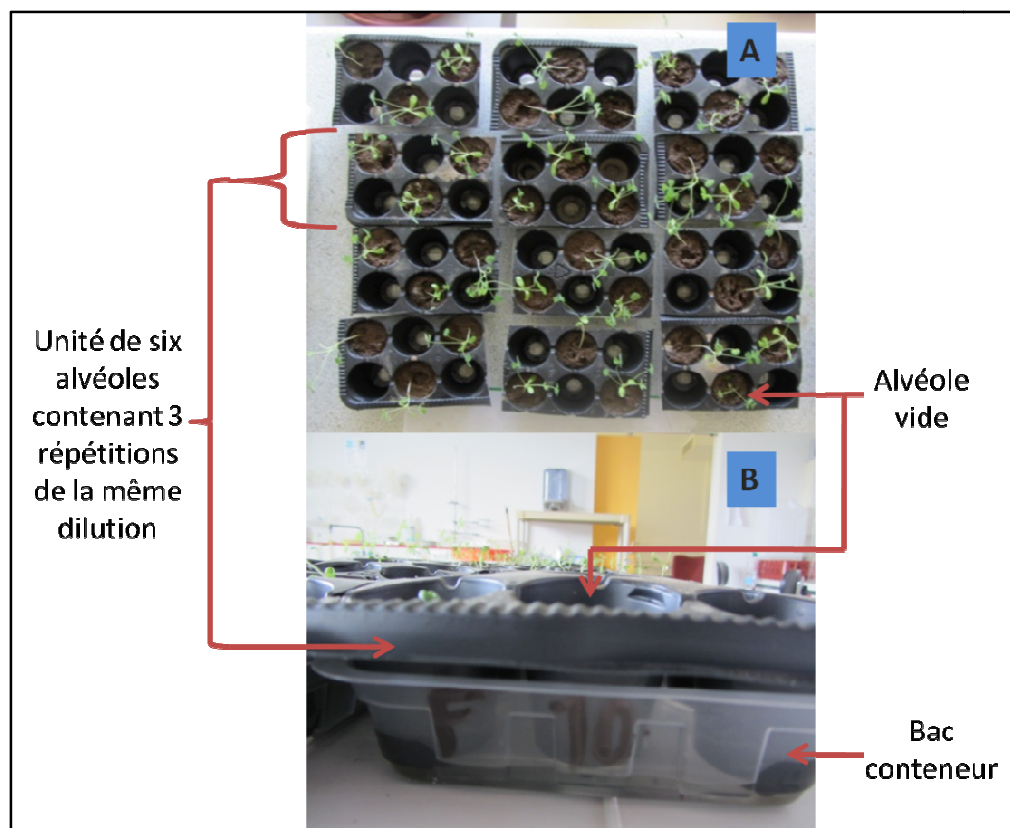


Figure 7 : (A) Vue de haut d'un dispositif MPN pour les 12 dilutions d'un sol. (B) vue latérale d'une unité de six alvéoles contenant la dixième dilution du sol F (sol 5). Réalisé par l'auteur, avril 2012

Les dilutions se réalisent de manière récursive, on remplit le mélangeur d'une quantité de sol non-stérile suffisante pour trois répétitions ( $3 \times 25 = 75$  grammes). On y ajoute la même quantité de sol stérile, on agite vigoureusement, puis on vide la moitié du mélange. La même quantité de sol stérile est introduite et ainsi de suite pendant toutes les dilutions. Le Tableau 3 résume les quantités de sol nécessaires.

#### 4.3.2. *Dilutions PIM*

Le dispositif expérimental des PIM suit la même logique que pour les MPN. Les mêmes précautions sont prises pour lutter contre les contaminations intra- et inter-dilutions, tout en facilitant la procédure d'arrosage. Les contenants étaient toutefois plus grands, pouvant contenir 150 grammes de sol, en raison du grand nombre de plantules (10) que chaque pot devait accueillir. Le choix a été porté sur des pots individuels en plastique rassemblés par trois sur une même soucoupe également en plastique (Figure 8).

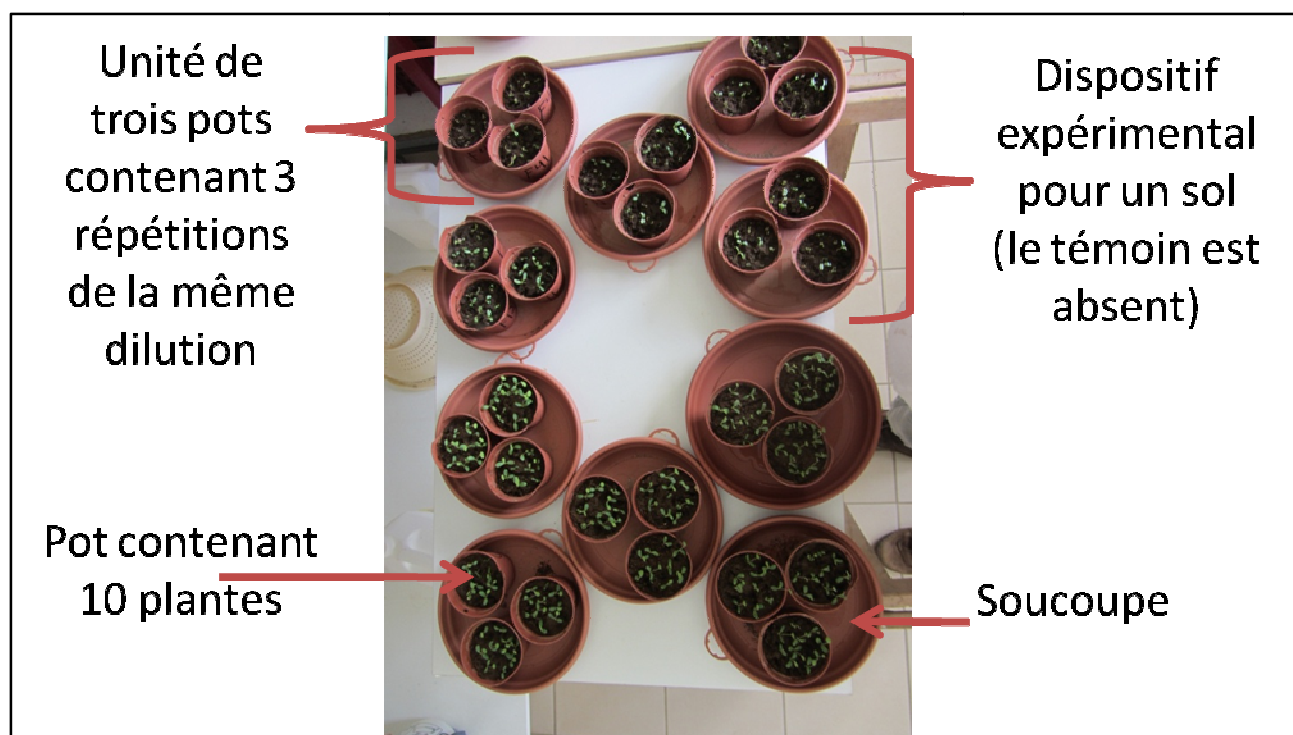


Figure 8 ; Vue du haut de deux dispositifs expérimentaux PIM. Réalisé par l'auteur, Mars 2012

Le procédé de dilutions a suivi le même principe récursif, où le résidu de la réalisation d'une concentration était l'intrant de la suivante, auquel on ajoutait une certaine quantité de sol stérile avant de procéder au mélange. Le Tableau 3 résume les quantités de sol nécessaires à l'expérience.

Tableau 3 : Résumé des quantités de sol stérile et non stérile utilisés pour les MPN et les PIM

Expérience	MPN			PIM		
Quantité de sol par pot (g)	25			150		
Plan expérimental	Dilution	Quantité de sol non stérile (g)	Quantité de sol stérile (g)	Concentration (%)	Quantité de sol non stérile (g)	Quantité de sol stérile (g)
	1	25	0	100	150	0
	2	12,5	12,5	30	45	105
	3	6,250	18,750	17,4	26	124
	4	3,125	21,875	10	15	135
	5	1,563	23,438	3	5	146
	6	0,781	24,219	T	0	150
	7	0,391	24,609			
	8	0,195	24,805			
	9	0,098	24,902			
	10	0,049	24,951			
	11	0,024	24,976			
	12	0,012	24,988			
	T	0	25			

### 3. Matériel végétal utilisé

#### 3.5. Choix du matériel végétal

Comme expliqué dans la revue bibliographique le choix de la plante-piège influence grandement les résultats de l'expérience. Ce choix détermine également tous les procédés situés en aval dans l'expérience, comme le temps de croissance, le processus de coloration, ainsi que l'aptitude de l'observateur à déceler des structures mycorhiziennes, étant donné que la morphologie des phases intraracinaire des CMA est susceptible de varier selon l'hôte (Brown and King, 1982).

La littérature scientifique révèle une grande diversité de végétaux utilisés dans les MPN, tandis que la littérature relative aux PIM, bien plus claires, relate surtout l'utilisation du poireau (Plenchette et al., 1989; Duvert et al., 1990; Declerck et al., 1996; Germani et Plenchette, 2004).

Le laboratoire de mycologie de l'UCL, travaille toutefois avec *Medicago ssp*, tant pour les MPN que pour les PIM. En effet, ces plantes présentent une croissance rapide du système racinaire, colonisant rapidement le substrat sur lequel elles poussent, elles se mycorhizent bien, avec une grande diversité de souches de CMA, la morphologie des racines permet une observation aisée des structures mycorhiziennes, elles se développent facilement et ont donc un taux de mortalité assez faible<sup>5</sup>.

L'utilisation de millet (*Pennisetum americanum* L.), conformément à ce qui a déjà été fait au CIRAD-Martinique (Saint-Etienne et al., 2006), fut rendue impossible par l'indisponibilité de semences en quantité suffisante.

Le contexte du stage, alliant un temps de séjour court et des expériences longues, ne laissait pas de place à l'erreur. Cette aversion au risque, ainsi que la disponibilité immédiate de graines, nous firent opter *Medicago truncatula*, plante avec laquelle l'expérience fut acquise durant le premier quadrimestre.

Les graves problèmes de mortalité rencontrés avec les plantules de *M. truncatula* (voir présentation des résultats) justifiaient cependant l'utilisation d'une autre espèce pour les MPN sur sol de plantain. Le choix fut porté sur une crotalaire : *Crotalaria retusa*, qui se développe bien dans les conditions édapho-climatiques locales, et qui présente de bonnes aptitudes à la mycorhization (Germani and Plenchette, 2004). Les processus expérimentaux ont été adaptés en conséquence. Dans les sections suivantes, des distinctions dans les protocoles seront faites entre les deux plantes utilisées.

Tableau 4 : Résumé de du type et de la quantité de matériel végétal nécessaire à la réalisation de PIM et MPN

Exp.	Test	Plante-test	Dilutions	Réplicats	Témoins	Plantes par pot	Plantes par test	Sols testés	Total plantes
1	MPN	<i>M. truncatula</i>	12	3	1	1	37	6	222
	PIM	<i>M. truncatula</i>	5	3	1	10	160	6	960
2	MPN	<i>C. retusa</i>	12	3	1	1	37	5	185

<sup>5</sup> Informations résultant d'un entretien avec Catherine Buysens, doctorante au laboratoire de mycologie.

### **3.6. Quantité de matériel végétal**

La réalisation en parallèle de MPN et PIM sur les 6 sols de l'expérience 1 demande 1182 plantules de luzerne (Tableau 4). L'expérience 2, avec MPN testé sur 5 sols demande 185 plantules de crotalaire (Tableau 4). Rappelons toutefois que l'on parle ici de plantules arrivant à terme de leur temps de croissance, il faut donc bien évidemment compter les pertes durant les phases de germination, de transplantation et de croissance.

Dans les conditions énoncées plus bas (p46). Un taux de germination présumé de 70% pour *Medicago* et *Crotalaria* s'est avéré réaliste par la suite. La gestion des pertes dues à la mortalité sera également explicitée plus bas.

### **3.7. Gestion du matériel végétal**

#### **3.7.1. Stérilisation des graines**

Afin de s'assurer que la colonisation racinaire par les champignons mycorhiziens à arbuscules ne provienne que du sol testé, il a été convenu de désinfecter les semences avant la germination.

Pour *Medicago*, le processus de stérilisation a été adapté de Declerck et al (1996) et Saint-Etienne et al (2006). Les graines sont agitées pendant 10 minutes dans une solution d'hypochlorite de Sodium (6% de chlore actif), suivi de deux rinçages de 10 minutes dans de l'eau stérilisée (autoclave pendant 20 min à 121°C).

Pour *Crotalaria*, un processus légèrement différent<sup>6</sup> a été appliqué (Alderete-Chavez et al., 2010). Il implique 15 minutes d'agitation dans l'hypochlorite de Sodium (10% de chlore actif), suivi de trois rinçages à l'eau stérile (autoclave 20min à 121°C).

#### **3.7.2. Pré-germination**

Même si cette technique, coûteuse en temps, n'est pas unanimement utilisée dans la littérature scientifique (certains auteurs comme Fischer et al (1994) ou An et al (1990) préconisent le semis direct). Le recours à la pré-germination/transplantation présente l'avantage de fournir aux expériences une population uniformisée de plantules ayant préalablement poussé dans les mêmes conditions, et de contourner les problèmes de graines non germées (Plenchette et al., 1989; Declerck et al., 1996).

Les graines sont disposées dans une boîte de Pétri, sur une couche de sable de Fontainebleau (de la société SIFRACO), préalablement stérilisé (autoclave 2h à 110°C (Declerck et al., 1996)), et mouillé à l'eau stérile (autoclave 20min à 121°C).

Elles sont ensuite placées en chambre de culture, dans les conditions suivantes : une photopériode de 12,5 heures, des intervalles de température jour/nuit équivalant à 26.8-29°C/23-26°C, l'intensité lumineuse et l'humidité relatives sont inconnues. Les graines à germer ont séjourné pendant 6 à 8 jours selon qu'il s'agisse respectivement de luzerne ou de crotalaire.

---

<sup>6</sup> Provenant des travaux de Claudine Corbion, employée au CIRAD-Martinique

### 3.7.3. Transplantation

Les plantules germées, débarrassés de sable résiduel sur leur racine, ont été transplantées dans les différentes dilutions préparées. A raison d'une plante par pot pour les MPN et de 10 plantes par pot pour les PIM.

La transplantation est une manipulation requérant du temps. La bonne mise en œuvre des MPN et PIM passe par un temps égal de croissance de toutes les plantes-test, la transplantation est donc obligatoirement réalisée lorsque la durée de germination arrive à échéance.

Cela implique de travailler en flux tendu : la mise en germination de chaque lot de graines doit être gérée de sorte à assurer à l'étape de transplantation, une source de plantules dont la quantité est adaptée aux facteurs disponibles, à savoir le temps et les sols dilués.

### 3.7.4. Phase de croissance

#### 7.4.1. Conditions de croissance :

Les MPN sont parfois réalisés en serre (Wilson and Trinick, 1983; Adelman and Morton, 1986; An et al., 1990), mais la plupart des auteurs utilisent des chambres de cultures dans lesquelles les conditions sont contrôlées. Les MPN et PIM ont été effectués à Louvain-la-Neuve dans les conditions indiquées dans le Tableau 5.

Le manque d'espace pour accueillir mon expérience dans les chambres de cultures du PRAM m'a contraint à envisager une autre solution.

La croissance en serres ne convenait pas, étant donné les stress occasionnés sur *Medicago* par la fluctuation de températures journalières qui y régnaient (moyennes thermiques<sup>7</sup> : 34,8/25,3 °C Jour/Nuit, avec des maxima atteignant 50°C et des minima de 22°C) ; ainsi que l'exposition au vent, source potentielle d'inoculum mycorhizien (Duvert et al., 1990).

Le seul espace intérieur disponible était un laboratoire hors d'usage, relié au système central de climatisation, permettant de maintenir une température constante (les températures moyennes et écarts-types<sup>8</sup> équivalent à 24,3 ± 0,5 °C pour les journées et 23,6 ± 0,2°C pour les nuits).

La seule source lumineuse était la lumière naturelle traversant la grande baie vitrée située sur un des murs. L'exposition lumineuse était donc latérale et inconstante. La photopériode avoisinait les 12h par jour.

Tableau 5 : Conditions de croissance dans chambre de culture de Louvain-la-Neuve (UCL) et en Martinique (PRAM)

Lieu	Photopériode (heures)	Humidité relative (%)	Intensité lumineuse (mmol.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	Température jour/nuits (°C)
UCL	16	65	200	26/24
PRAM	12	?	Variable mais faible et d'incidence latérale	24/23

<sup>7</sup> Données récoltées par l'auteur à l'aide d'un capteur de température automatique, programmé pour effectuer une mesure toutes les demi-heures, séjournant pendant 15 jours en serre, et pendant 15 jours dans la pièce de croissance des MPN et PIM.

<sup>8</sup> Idem



Figure 9 : Photographie de la chambre de croissance des PIM (  gauche) et MPN (  droite). La fenêtre est située à gauche du photographe. Réalisée par l'auteur, mars 2012.

#### 7.4.2. *Temps de croissance*

L'influence du temps de croissance sur le résultat de l'expérience à été discutée dans la revue bibliographique. Pour le PIM, le temps préconisé par Plenchette et al (1989) est de 14 jours, alors que pour le MPN, Le temps de croissance dans la littérature varie de 6 semaines (Porter, 1979; Declerck et al., 1999; Saint-Etienne et al., 2006)   9 semaines (An et al., 1990; Gaidashova et al., 2010).

#### 7.4.3. *Soins apportés aux plantes*

##### 4.3.1. Arrosage :

De l'eau déminéralisée a été utilisée pour un arrosage manuel effectué 3 fois par semaine (lundi-mercredi-vendredi). Cette procédure doit se faire de manière à ce qu'il n'y ait pas d'éclaboussures entre les différentes pots. La diversité des substrats, et de leur pouvoir de rétention d'eau doivent être pris en compte dans l'arrosage. Il faut continuellement surveiller l'état hydrique de chaque sol et sa réaction à l'arrosage afin de pouvoir l'adapter.

##### 4.3.2. Pivotement :

Etant donné l'obliquité de la source lumineuse et la phototropie des plantes, les pots étaient tournés de 180  tous les deux jours, afin d'éviter la croissance en biais des tiges.

Tableau 6 : Résumé des temps de croissance respectés pour les différentes expériences

Expérience	Test	Matériel Végétal	Temps de croissance (semaines)
1	MPN	Luzerne	6
	PIM	Luzerne	2
2	MPN	Crotalaire	6



#### 4.3.3. Fertilisation :

Certains auteurs préconisent la fertilisation pour une meilleure croissance végétale (Wilson and Trinick, 1983; An et al., 1990). Cependant, ces applications peuvent avoir des conséquences importantes sur le résultat de l'expérience (Plenchette et al., 1989). Il n'y a donc pas eu d'ajout de fertilisants dans mes expériences.

#### 7.4.4. *Gestion des plantules mortes*

Comme indiqué dans la présentation des résultats, on a observé des taux de mortalité très élevés. L'absence de littérature scientifique relative à cette problématique m'a contraint à poser des règles de décision. Bien que reposant sur une base purement subjective, ces règles ont permis de réagir avec cohérence.

Il fallait décider des facteurs déterminant les réponses aux deux questions suivantes : En cas de mort, (i) est-il nécessaire de replanter ? (ii) si oui, est-il nécessaire de refaire la dilution concernée ? Ces deux décisions sont évidemment influencées par le temps disponible à l'expérimentateur.

La décision de replanter doit être basée sur l'influence que peut avoir l'ablation d'un effectif végétal sur la réponse du test. Dans le cas du MPN, l'absence d'une ou plusieurs plantes dans les trois répétitions d'une dilution peut parfois être comblée lors des calculs. Il y a une possibilité d'interpolation des résultats obtenus dans les deux dilutions inférieures et supérieures à la dilution concernée. La seule interpolation possible à lieu quand le nombre de positifs est égal pour les dilutions bornant les pots affectés par les morts. Par exemple, lors de l'occurrence du cas de figure suivant :

Tableau 7 : Interpolation possible en cas de mort pour les MPN

Dilution	Morts	Nombre de positifs	Interpolation
$1/2^{10}$	0	0	
$1/2^{11}$	2		0
$1/2^{12}$	0	0	

Cependant, le nombre de positifs n'est connu qu'à l'issue de l'expérience, le risque d'avoir des plantes mortes à une dilution charnière indispensable au calcul du MPN est dès lors excessivement élevé. Par conséquent, l'action de remplacer est toujours prônée.

Dans le cas de PIM, nous considérons qu'une population supérieure ou égale à 8 effectifs par pots était tolérée. Le postulat fut pris qu'un tel effectif ne modifiait pas significativement la quantité de sol exploré par l'ensemble de la population végétale, et par conséquent l'estimation du PIM.

La décision de refaire les dilutions dépend de la possibilité qu'à eu le système racinaire mort, par des interactions avec les CMA présents dans le sol, de modifier le nombre ou la viabilité des propagules infectieuses dans le sol en question. Pour les MPN, on a recommencé les dilutions quand le moment d'occurrence de la mortalité était supérieur à une semaine de croissance. Pour les PIM, la période tolérée de mortalité sans qu'il y ait re-dilution était de deux jours.

## 4. Récolte et traitement du système racinaire

### 4.8. Dépotage

Lorsque les plantes arrivent à terme de leur phase de croissance, les sols sont dépotés, les plantes sont sectionnées au collet. Le système racinaire est séparé du substrat par un lavage précautionneux à l'eau claire. Chaque particule de sol demeurant sur la racine altèrera la qualité de l'observation.

Dans les MPN, chaque pot ne contient qu'une plante, l'objectif du dépotage est de récupérer toute racine ou fragment de racine se trouvant dans le substrat.

Tandis que dans les PIM, chaque pot contenant dix plantes, l'objectif est de récupérer chaque système racinaire séparément, car l'on ne peut attribuer un fragment racinaire isolé à une plante en particulier.

Le fait de mouiller abondamment le sol une heure avant de le dépoter permet d'avoir un sol plus friable, facilitant l'opération. Après dépotage chaque système racinaire peut être conservé dans l'alcool à 70° (Uto et al., 2011). Les systèmes racinaires ont été conservés individuellement dans des tubes à hémolyse, à température ambiante, dans un placard, à l'abri de la lumière.

### 4.9. Marquage

La gestion d'une grande quantité de matériel végétal a nécessité le marquage des tubes contenant les racines, et ce, à l'aide avec un code chiffré établi permettant de situer l'expérience, le sol, la dilution et la répétition dont chaque système racinaire était issu.

### 4.10. Coloration

Le procédé de coloration provient de Phillips et Hayman (1970). Il permet d'observer des structures fongiques colorées, qui, même dans la phase intra-racinaire, sont distinguables des cellules végétales. La première étape consiste en la décoloration des cellules végétales, en les vidant de leur contenu cytoplasmique et nucléaire (Phillips and Hayman, 1970), grâce à une solution d'hydroxyde de Potassium (KOH).

Il faut ensuite colorer les structures fongiques. Vierheilig et al (1998) ont développé un processus de coloration simple, basé sur l'utilisation d'encre et de vinaigre, et permettant d'éviter le recours à des produits toxiques généralement utilisés (bleu de trypan, fuschine acide). Le processus de coloration utilisé dans mes expériences est une version de Vierheilig et al, adaptée par le laboratoire de mycologie de l'UCL.

#### 1) Décoloration

Tremper les racines dans une solution de 10% (m/v) de KOH pendant 30 minutes au bain marie (80°C). Puis laver les racines à l'eau claire.

#### 2) Coloration

Tremper les racines dans une solution composée de 5% d'encre Parker® couleur bleue, et de 95% d'acide acétique 5% (v/v) pendant 10 minutes au bain marie à 80°C. Laver les racines à l'eau claire, elles peuvent être conservées dans de l'eau légèrement acidifiée (10ml d'acide acétique 5% par litre d'eau).

Ces deux procédés nécessitent une manipulation très précautionneuse du système racinaire, afin de (i) ne pas perdre de fragments racinaires (ii) ne pas endommager ou perdre des fragments du cortex racinaire fragilisé.

Le temps de trempage de la décoloration a été modifié pour *C. retusa*, qui possède des racines plus épaisses. Le trempage au KOH a été modifié étendu à 45 minutes.

## **5. Observation et estimation du potentiel mycorhizien**

### **5.11. Observation**

Cette étape de l'expérience est sujette à une grande subjectivité, elle requiert de l'acuité et de l'expérience de la part de l'observateur, qui aura une influence certaine sur le résultat.

Chaque système racinaire récolté doit être classé selon la présence ou l'absence de colonisation mycorhizienne. La constatation d'une seule structure mycorhizienne permet d'affirmer le résultat positif. Tandis que l'affirmation du résultat négatif demande l'observation de l'entièreté du système racinaire (afin d'éviter les faux-négatifs). La première difficulté est donc de s'assurer que l'on a tout observé. La deuxième difficulté est de différencier un vrai positif, contenant des CMA, d'un faux positif, qui peuvent être d'autres champignons, des structures végétales, des poussières, des zones ombragées.

Voici le protocole mis au point afin de minimiser ces difficultés.

-Observation exhaustive : Les racines sont disposées sur un couvercle de boîte de Pétri. Le système racinaire est découpé et disposé en fragments parallèles de quelques centimètres de longueur. Chaque fragment est observé à la loupe binoculaire. Malgré le faible grossissement, l'image tridimensionnelle permet de bien distinguer le mycélium sur la surface racinaire.

-Affirmation du vrai positif : Selon Fischer et Al. (1994), l'affirmation du vrai positif a lieu si au moins une des trois caractéristiques suivantes sont diagnostiquées : (i) présence de vésicules, (ii) présence d'arbuscules, (iii) présence de mycélium asepté pénétrant dans la racine.

Ces caractéristiques peuvent parfois être observées à la loupe binoculaire. Dans le cas contraire, le fragment racinaire présumé positif est monté sur lame et observé au microscope (agrandissement 10, 40 ou 63X). En cas de doute, la comparaison avec un vrai positif peut s'avérer révélatrice.

#### **5.11.1. Particularité pour les PIM**

Lors des observations des systèmes racinaires récoltés après 14 jours, nous avons constaté la présence en grande quantité de structures fongiques, à savoir du mycélium et des structures reproductives, mais nous n'avons pu détecter aucune structure particulière aux CMA. Aucune racine observée n'a présenté les structures fongiques intra-racinaires spécifiques aux CMA. De sorte que le processus de décision appliqué aux MPN, permettant d'affirmer ou infirmer la mycorhization d'un échantillon, n'a pu être suivi.

Afin de produire tout de même des résultats, la décision s'est basée sur des critères moins clairs et plus subjectifs, reposant uniquement sur l'acuité de l'observateur à différencier un mycélium de CMA au sein de plusieurs mycélia. Un échantillon était positif lorsque l'on pouvait observer un des

trois critères suivants (i) un mycélium coenocytique (asepté) présent autour de la racine, (ii) semblant y adhérer, (iii) présentant des épaissements (pouvant annoncer la différenciation future d'un appressorium).

Ces critères moins exclusifs que les précédents, rendent plus difficile la prise de décision, et augmentent le risque d'erreur commis lors de l'observation. Que ce soit via l'occurrence de faux-positifs ou de faux négatifs. Ces erreurs potentielles devront être prises en compte lors de l'analyse des résultats.

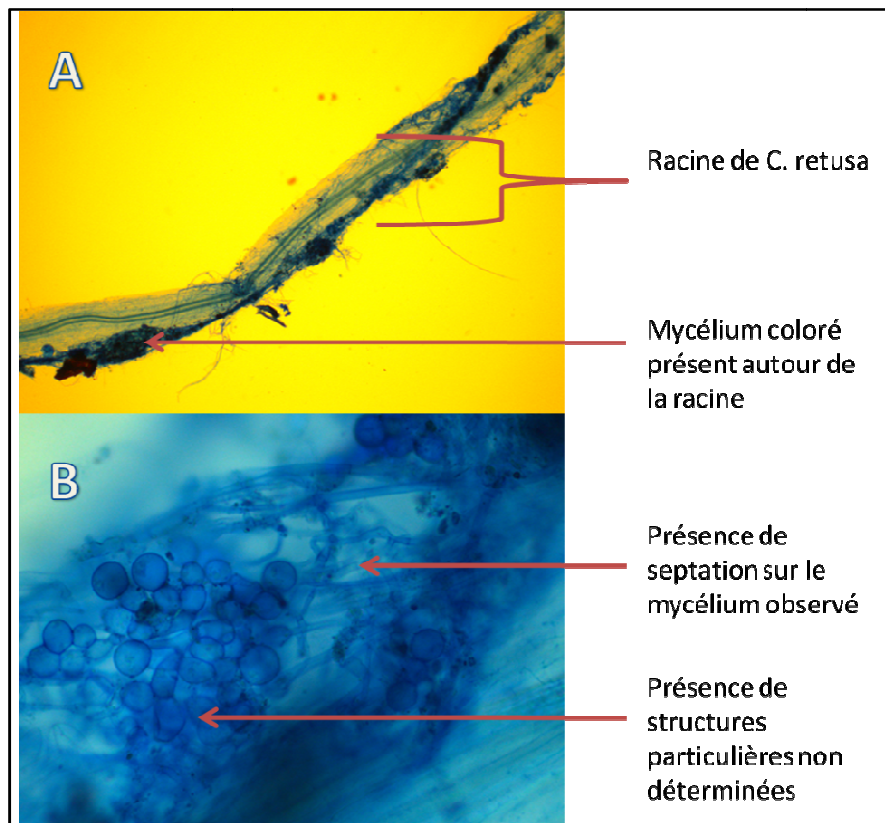


Figure 10: (A) Photographie microscopique (5X) d'une racine colorée issue d'une concentration de 3% de sol 4 non-stérile. (B) Photographie microscopique (63X) de la même racine. Réalisé par l'auteur, Avril 2012

## 6. Calculs

### 6.12. Le PIM

Pour chaque pot, nous avons déterminé le pourcentage de plantes mycorhizées. Les 15 valeurs obtenues feront l'objet d'une régression linéaire simple.

Y, La variable expliquée est le pourcentage de plantes mycorhizées, tandis que x, la variable explicative est le logarithme du pourcentage de sol non-stérile (Plenchette et al., 1989). Deux estimateurs sont construits par la méthode des moindres carrés :  $\alpha$  et  $\beta$ , estiment respectivement la pente et l'interception de la droite avec l'ordonnée.  $\hat{Y}$  est le pourcentage de plantes mycorhizées estimé par le modèle linéaire selon l'équation suivante.

$$\hat{Y} = \alpha x + \beta$$

Avec cette équation, on peut calculer PIM<sub>50</sub> pour chaque sol testé, soit la quantité de substrat non-stérile nécessaire à l'infection de la moitié de la population.

### 6.13. Le MPN

La formule permettant de calculer le MPN, « nombre le plus vraisemblable » de propagules contenues dans G grammes de sol, est donnée par Fisher et Yates (1949). Pour une expérience au terme de laquelle on a observé X positifs et Y négatifs. Réalisée avec les paramètres suivants :

Tableau 8 : Paramètres de l'expérience MPN

Paramètre	Signification	Dans notre cas
S	Nombre de dilutions	12
n	Nombre de répétitions	3
a	Facteur de dilution	2
G	Masse de sol par pot (gramme)	25

$$\text{Log MPN} = (x \cdot \log a) - K_{(y,s)}$$

Avec :  $x$ , la moyenne de plantes mycorhizées =  $X/r$ , et  $Y$ , la moyenne des plantes non mycorhizées =  $S-x$ . Et  $K$  est donné par les tables de Fisher et Yates (1949) (Annexe 3) en fonction de  $y$  et de  $S$

L'écart type du log MPN estimé est donné par la formule suivante (Cochran, 1950) :

$$\sigma_{\log \text{MPN}} = 0,55 \sqrt{\frac{\log a}{n}}$$

# Deuxième Phase : récupération de données édapho-climatiques des sols étudiés.

---

## **1. Données climatiques et de typologie des sols.**

Les données pluviométriques, thermiques, géographiques et typologiques des onze sols étudiés ont été produites par Paul-Alexandre Marie-Alphonsine et Martin Godefroid, respectivement pour les sols sous culture ananas et plantain, à l'aide de systèmes d'information géographiques réalisés par le CIRAD sur base de données Météo France, ainsi que des travaux pédologiques de Colmet-Daage et al. (1969). Vous trouverez en Annexe 1 les cartes de pluviométrie et des isothermes.

## **2. Analyses physico-chimiques.**

Pour des raisons de disponibilité d'information et de source budgétaires différentes, la provenance des données chimiques n'est pas la même pour tous les sols.

Les parcelles dont proviennent les sols 7 à 11 ont déjà fait l'objet d'une analyse chimique début 2011<sup>9</sup> par le laboratoire d'analyse du sol du Pram. Les analyses sont donc vieilles d'un an et bien que réalisées sur les mêmes parcelles qui firent l'objet de nos analyses du potentiel mycorhizien, elles n'ont pas été réalisées à partir des mêmes échantillons.

Quant aux sols ananas (1 à 6), leurs analyses ont été réalisées à partir des échantillons collectés dans le cadre de ce travail, par le Laboratoire d'analyse du sol du Pram en mai 2012. Après prélèvement, une petite portion (150g) de chaque sol a été conservée à 4°C avant d'être envoyée à l'analyse. Les principaux résultats d'analyse sont repris dans la section résultats

---

<sup>9</sup> Dans le Cadre du travail de Martin Godefroid, encadré par Patrick Quenehervé.

# Troisième phase, construction d'une trame d'enquête destinée aux exploitations de banane plantain

---

## 1. Base de données

Le choix de l'échantillon a été réalisé à l'aide d'une large base de données d'exploitations plantain en Martinique réalisée dans le courant de l'année 2010-2011 par Martin Godefroid (CIRAD) et Patrick Queneherve (IRD) dans le cadre d'une étude nématologique. Cette base de données contient des informations pédo-climatiques, sur lesquelles nous nous baserons, mais aussi nématologiques et géographiques, et enfin, des informations sur les pratiques culturales résultant d'entretiens réalisés par M. Godefroid et P. Quénéhervé. Une cinquantaine d'exploitations ont été référencées, mais la brève durée de vie moyenne des plantations de plantain amoindrit considérablement la quantité de parcelles candidates à mon enquête, qui fut réalisée plus d'un an après les entretiens de P. Quenehervé et M. Godefroid.

## 2. Choix de l'échantillon

Le choix de l'échantillon a été fait afin qu'il englobe une certaine diversité de types de sol et d'âge de la bananeraie. Cinq exploitations ont été sélectionnées, sur lesquelles nous nous sommes rendus pour récupérer des nouvelles informations ou pour en actualiser un certain nombre. Afin de minimiser l'effet génotypique sur la mycorhization, l'enquête a été menée sur des parcelles contenant le même mélange de cultivars : créole blanche et créole rose.

## 3. Construction de la trame d'enquête

Le but de l'enquête a été de répondre à deux questions. (i) quelles sont les pratiques réalisées ? (ii) quelles pratiques peuvent influencer le potentiel de mycorhization ?

Pour ce faire, nous avons adapté le questionnaire préexistant utilisé par M. Godefroid et P. Quénéhervé, en nous basant plus particulièrement sur les pratiques affectant le potentiel mycorhizien des sols, cette connaissance provient de l'étude bibliographique des effets des pratiques agricoles sur la mycorhization (voir revue bibliographique). Ainsi que, plus particulièrement, l'étude de Gaidashova et al (2010), qui réalise le même genre d'enquête sur des systèmes bananiers africains.

### 3.1. Les axes principaux

La confrontation avec la bibliographie nous a permis de choisir quatre axes principaux selon lesquels nous avons dirigé notre questionnaire. Ces axes sont décrits dans les paragraphes suivants.

### 3.1.1. Evolution et configuration de la population végétale

Le but était de connaître d'une part l'évolution dans le temps de la population végétale de la parcelle, les précédents culturaux, l'âge de la parcelle, et d'autre part, sa configuration actuelle, donnée par la disposition et la densité des bananiers, d'associations culturales et d'adventices.

L'estimation de la densité des bananiers a été réalisée en mesurant la distance moyenne entre le pseudo-tronc du bananier au pied duquel un prélèvement a été réalisé, et quatre autres bananiers adjacents, selon la méthode de Gaidashova et al (2010).

L'évaluation du taux de recouvrement du sol par les adventices ou les cultures associées a été réalisée à posteriori, après l'observation de 5 photographies du sol de chaque parcelle, prises lors de la visite de l'exploitation. Pour chaque parcelle un niveau de recouvrement a été déterminé selon l'échelle de Gaidashova et al (2010), Cette échelle associe les niveaux de 1 à 6 à des intervalles logarithmiques de recouvrement du sol :

Tableau 9: Echelle de recouvrement végétal du sol (Gaidashova et al., 2010)

Pourcentage de recouvrement	<2	2-5	6-10	11-25	26-50	>50
Niveau attribué	1	2	3	4	5	6

### 3.1.2. Travail du sol

L'intensité physique et temporelle des perturbations du sol affectent la population de CMA tant sur le plan quantitatif que qualitatif (voir revue bibliographique). Dès lors, les cultivateurs ont été interrogés sur le type, la fréquence et la proximité temporelle des événements de travail du sol.

### 3.1.3. Intrants phytosanitaires et fertilisants.

Le questionnaire a porté sur l'utilisation de tous types d'intrants : insecticides, fongicides, nématicides, herbicides, fertilisants organiques, minéraux et amendements. La diversité des produits utilisés, le manque de régularité des applications, ainsi que le manque d'informations disponibles nous firent toutefois mettre l'emphasis sur les événements qui semblent le plus affecter le potentiel mycorhizien du sol.

- a) Les applications de fongicides et de fertilisants dans les 5 mois autour de la date de plantation, où, avant l'établissement de la symbiose, la population de CMA peut-être plus sensible aux effets fongicides (Plenchette et al., 2005). Cette période est également importante pour la dépendance mycorhizienne de la plante et pour l'établissement de la symbiose. Elle correspond en effet à une période critique de demande nutritionnelle, à laquelle une importante mycorhization peut répondre (Smith et al., 1992). Les applications d'herbicides lors de cette période ont également été recensées. Ces pratiques peuvent en effet indiquer la composition de la population végétale ou le recouvrement du sol au moment de la plantation.
- b) Les applications de fongicides et de fertilisants appliqués dans les 3 mois précédent le prélèvement du sol. Ces événements, par leur proximité temporelle sont supposés affecter de manière prédominante le potentiel mycorhizien du sol. Les observations portant sur les adventices ont été préférées aux informations sur l'utilisation d'herbicides.



# Chapitre trois : Présentation des résultats

# Préambule :

---

Au cours de ce travail, nous avons été confrontés à une mortalité très élevée des plantes pièges, diminuant considérablement la quantité de résultats obtenus. Cette situation nous a poussés à recadrer en partie les objectifs de ce travail. C'est pourquoi, en plus des objectifs initialement prévus, nous avons abordé les facteurs potentiellement responsables de ce taux de mortalité élevé.

Les résultats seront présentés selon les objectifs du travail. La première partie présente les résultats de mortalité des plantules, pour enchaîner ensuite sur la deuxième partie, à savoir les estimations MPN et PIM. Les parties trois et quatre traiteront respectivement des données édapho-climatiques et agronomiques des parcelles étudiées.

# Première partie : Mortalité

---

## 1. Taux de mortalité

Le taux de mortalité des plantes pièges est repris au Tableau 10. Pour les 17 tests menés (11 MPN et 6 PIM), 28 plantules mortes ont dû être remplacées. Ceci a nécessité 2040 nouvelles plantules, ce qui fit plus que doubler la quantité de plantules nécessaires par rapport à la quantité initialement prévue.

Les modalités de remplacement du matériel végétal mort sont explicitées dans la section « matériel et méthodes ». Parmi ces 28 remplacements, 4 tests (en gris dans le Tableau 10) furent entièrement recommencés, c'est-à-dire que toutes les plantules furent replantées et toutes les dilutions refaites. Tandis que 14 autres remplacements de plantules, bien que ne s'appliquant pas sur l'entièreté de la population végétale du test, se sont accompagnées de remplacements de substrat, donc de re-dilutions pour les pots concernés.

La pratique des remplacements est intrinsèquement très exigeante en temps, surtout quand elle est accompagnée de re-dilutions. De plus, l'installation d'une nouvelle plantule réinitie le temps de croissance pour le pot concerné. La disponibilité en temps et en quantité de graines devinrent dès lors limitants de sorte que la substitution de plantules cessa, à partir d'un moment, d'être une solution pour contourner la mortalité élevée. Ceci a entraîné l'abandon de 10 tests sur les 17. Il n'y a donc que 7 tests sur 17 (en vert dans le Tableau 10), dont le nombre de plantules au terme de la période de croissance ont permis une analyse des MPN et PIM.

## 2. Calcul des taux de mortalité

Le fait d'avoir tenu un registre détaillé des remplacements de plantules nous permet toutefois de calculer les taux de mortalité observés dans les différentes expériences. Nous avons calculé  $T_m$ , le taux de mortalité, en divisant le nombre de plantules mortes par le nombre total de plantules utilisées, selon la formule suivante :

$$T_m = \frac{Mr + Mf}{Vr + Vd}$$

Avec :

-**Mr**, le nombre de plantules mortes remplacées, équivalant au nombre total de plantules remplacées moins celles qui, parmi les plantules remplacées, n'étaient pas mortes

-**Mf**, le nombre de morts à la fin de l'expérience

-**Vr**, le nombre total de plantes remplaçantes

-**Vd**, le nombre de plantules vivantes placées au début de l'expérience.

Tableau 10 : Résumé des événements de mortalité et de remplacement des plantules. En gris, remplacements correspondant au recommencement de l'expérience. En vert, les sols dans lesquels le nombre de plantules vivants était suffisant pour les estimations PIM ou MPN.

Expérience	MPN						PIM						MPN					
Plante-test	Medicago truncatula												Crotalaria retusa					
Numéro de Sol	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Nombre initial de plantules	37	37	37	37	37	37	160	160	160	160	160	160	37	37	37	37	37	
Quantité de plantes changées par remplacement	7	3	1	6	11	2	120	120	3	90	120	5	1	5	1	-	1	
	37	2	-	8	37	13	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	37	
	3	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37	-	-	-	
Nombre de remplacements	3	3	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	3	1	0	1	
Total plantes remplacées	47	11	1	14	48	15	120	120	3	90	120	5	1	43	1	0	38	
Plantules remplacées mais pas mortes	24	-	-	-	4	-	4	12	-	8	3	-	-	14	-	-	8	
Morts à la fin de l'expérience	19	25	0	17	22	16	69	83	7	58	77	0	0	24	1	0	27	
Taux de mortalité	0,69	0,75	0,03	0,61	0,81	0,60	0,67	0,71	0,06	0,60	0,70	0,03	0,03	0,80	0,05	0,00	0,85	

### 3. Analyse des facteurs de mortalité

#### 3.1. Plante piège, sol utilisé et méthode d'estimation (MPN, PIM)

Grâce aux résultats obtenus dans la section précédente, nous pouvons réaliser une analyse statistique pour tenter de dégager les facteurs qui peuvent le mieux expliquer les problèmes rencontrés. Les trois facteurs testés sont catégoriels : (i) La plante-test (deux niveaux), (ii) L'expérience réalisée (2 niveaux) et (iii) Les sols utilisés (11 niveaux)

Le plan d'expérience utilisé n'est pas balancé : nous n'avons pas testé les combinaisons de tous les facteurs. Il n'y a pas non plus de répétitions, chaque combinaison de facteurs est réalisée une seule fois, ou n'est pas réalisée. L'échantillon total est composé de 17 taux de mortalité. Le modèle utilisé est un modèle général linéaire (GLM) composé de trois facteurs catégoriels, avec ce plan d'expérience lacunaire, nous n'avons pas pu estimer d'interaction sans avoir de confusions. Les analyses ont été réalisées avec le logiciel JMP9. Les résultats sont présentés dans les trois tableaux suivants.

Tableau 11 : Résultat de l'ANOVA pour le modèle estimé.

Analyse de la variance. H0 : Modèle réduit, Y = Moyenne					
Source	DDL	somme carrés	carré moyen	rapport F	prob > F
Modèle	11	0,8016011	0,072873	0,3472	0,9332
Résidus	5	1,0492907	0,209858		Décision
Total	16	1,8508919			H0 Acceptée

Le Tableau 11 indique que tous les coefficients de variation estimés peuvent être considérés comme nuls. Toutefois, lorsque les coefficients sont testés séparément (Tableau 12), le seul pouvant expliquer la variabilité observée est l'espèce végétale utilisée (p-valeur = 0,0243).

Tableau 12 : Résultats des tests de Fischer réalisés sur chaque coefficient estimé.

Test des coefficients. H0 : Facteur est égal à 0						
Source	Nombre de coef.	DDL	Somme carrés	rapport F	prob > F	Décision
Expérience	1	1	0,2496967	1,1898	0,3251	H0 Acceptée
Numéro de Sol	10	10	2,4359068	1,1607	0,4615	H0 Acceptée
Espèce végétale	1	1	2,135397	10,1754	0,0243	H0 refusée

Lorsqu'on s'intéresse à la qualité de l'ajustement, nous pouvons voir que le  $R^2$  du modèle est faible

Tableau 13 : Résumé de la qualité d'ajustement du modèle.

Evaluation de la qualité de l'ajustement		
Mesure		Valeur
Coefficient de détermination	$R^2$	0,433089
Coefficient de détermination ajusté	$R^2a$	-0,81411
Ecart type résiduel	S	0,458103

### 3.2. Contamination des systèmes

Un mycélium blanc (Figure 11 A) a été observé à la surface du substrat dans plusieurs pots et dans presque tous les sols, toutefois en quantité différente. L'observation microscopique de certains systèmes racinaires a révélé la présence de grandes quantités de mycélium autour des racines (Figure 11 C). La présence de mycélium en surface des pots et autour des racines est également observée chez les témoins (sols autoclavés) suggérant une contamination par l'environnement au cours des nombreuses manipulations du sol pendant l'expérience ou pendant la phase de croissance.

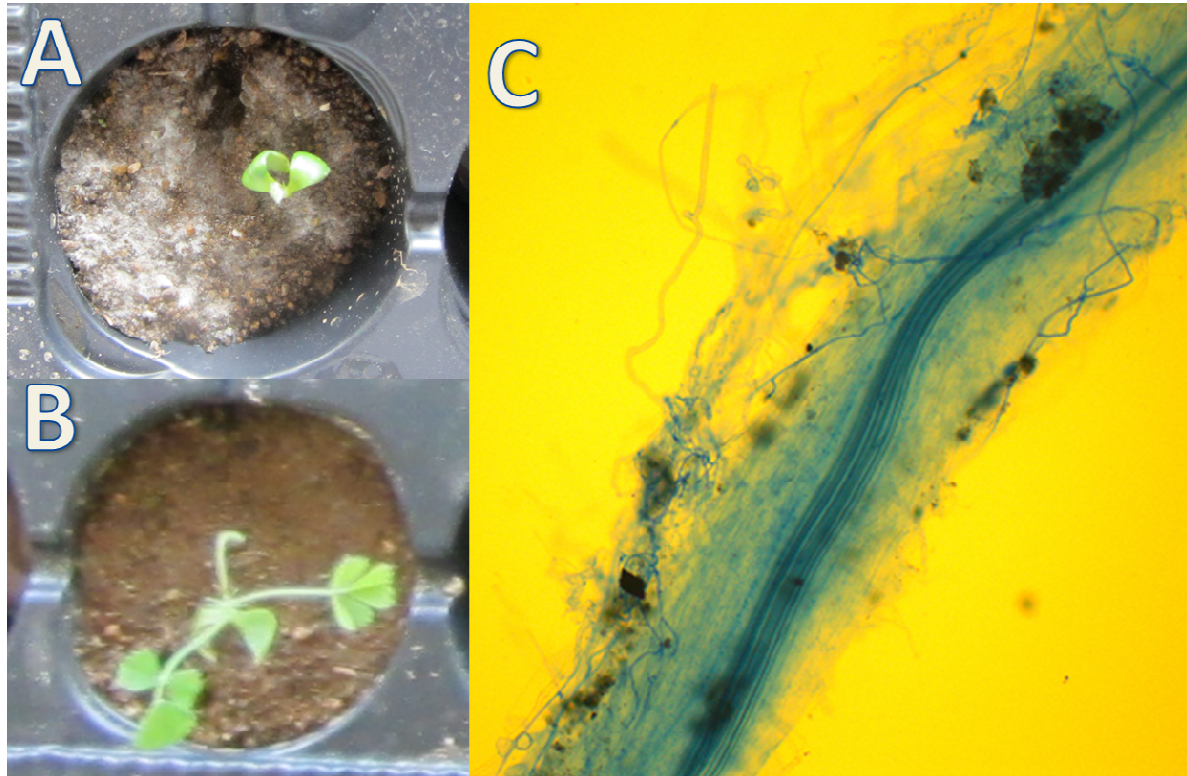


Figure 11: (A) Pot de 25g (MPN sol 1) planté de *Medicago truncatula* où l'on observa du mycélium blanc à la surface du substrat. (B) Pot de 25g (MPN sol 6) planté de *Medicago truncatula*, où l'on n'observa pas de mycélium en surface. (C) Racine de *M. truncatula* colorée et entourée de mycélium présumé non-mycorhizien, car des septa ont été observés avec un meilleur agrandissement (filaments bleus), photographie microscopique (10X). Réalisation par l'auteur mars-avril 2012

# Deuxième Partie : Estimation des potentiels infectieux

## 1. Les estimations PIM

### 1.1. Observation des systèmes racinaires

Comme vu précédemment, dans la section « matériel et méthodes », aucune structure mycorhizienne intraracinaire n'a été observée dans les 385 systèmes racinaires du test PIM. Les résultats présentés dans la section suivante sont donc le fruit d'un processus de décision alternatif adapté à ce cas de figure, mais bien moins performant.

Les systèmes racinaires des témoins observés contenaient du mycélium. A l'instar des autres dilutions, celui-ci pouvait-être mycorhizien ou non. Ce constat ne permet pas d'affirmer l'efficacité de la stérilisation à l'autoclave et du processus expérimental pour empêcher les contaminations. Qui, rappelons-le, sont réalisés de la même façon que les MPN. Mais, il ne permet pas non plus de l'infirmier, étant donné le potentiel contaminant de la chambre de culture. Cet aspect sera développé dans la partie discussion.

### 1.2. Les PIM contenant assez de plantules

Les PIM pour les sols 3 et 6, contenaient respectivement 7 et 0 plantules mortes à l'issue des deux semaines de croissance (Tableau 10), les expériences réalisées sur ces sols ont permis la réalisation d'une régression linéaire avec 15 échantillons regroupés en trois répétitions de 5 concentrations différentes (ou points supports de l'expérience) initialement planifiés.

Pour le sol 3, le Tableau 14 montre que l'occurrence des sept morts s'est produite dans des pots différents, de sorte que dans les pots les plus touchés, la population minimale de plantules était de 8 au lieu de 10, c'est le cas dans deux pots composés de 17,4 et 100% de sol non-stérile. Nous avons pris pour postulat qu'un effectif par pot réduit à 8 plantules ne modifiait pas les hypothèses de base du PIM, ni les inférences sur les résultats.

Pour le sol 4 par contre, Il y a eu 58 plantules mortes à la fin de l'expérience (Tableau 14). Comme le montre le tableau suivant, la répartition de ces morts était essentiellement concentrée sur les trois plus grosses concentrations, de sorte que la population de plantules vivantes dans les deux plus petites était de minimum 8. Ces populations étaient dès lors suffisantes selon le postulat du paragraphe précédent. La régression linéaire a donc tout de même été calculée, même si elle se base seulement sur 6 échantillons répartis en deux dilutions, au lieu des 5 initialement prévus.

Tableau 14 : Répartition du nombre de plantules mortes en fonction des pots pour les PIM sol 3 et sol 4

Sol 3	Pourcentage de sol non stérile							Sol 4	Pourcentage de sol non stérile						
Réplicat		100	30	17,4	10	3	0	Réplicat		100	30	17,4	10	3	0
	1	0	0	0	0	0	1		1	4	9	6	2	1	3
	2	0	0	2	0	1	-		2	5	4	5	1	0	-
	3	2	0	0	0	1	-		3	9	4	5	0	0	-

### 1.3. Calcul du PIM<sub>50</sub>

Voici, pour exemple, un tableau reprenant les résultats obtenus pour le sol 6, après observation des systèmes racinaires des 150 plantes récoltées.

Tableau 15 : Résumé des observations des systèmes racinaires pour le PIM du sol numéro 6. Une plante est dite « positive » quand des CMA y ont été observés.

Répétition	% Sol Non-Stérile	Log(% Sol Non-Stérile)	Nombre de plantes positives	Proportion de plantes positives
1	100	2	10	1
2	100	2	5	0,5
3	100	2	5	0,5
1	30	1,48	6	0,6
2	30	1,48	7	0,7
3	30	1,48	4	0,4
1	17,4	1,24	4	0,4
2	17,4	1,24	5	0,5
3	17,4	1,24	5	0,5
1	10	1	5	0,5
2	10	1	2	0,2
3	10	1	2	0,2
1	3	0,48	1	0,1
2	3	0,48	9	0,9
3	3	0,48	2	0,2

La méthode de calcul utilisée provient de Plenchette et al (1989). La variable expliquée Y est la proportion de plantes positives (c'est-à-dire, mycorhizées) par pot (Tableau 15, colonne 5). La variable explicative X est le logarithme du pourcentage de sol non stérile contenu dans chaque pot (Tableau 15, colonne 3). L'estimation de la droite de régression s'est faite par la méthode des moindres carrés. La droite contient deux estimateurs :  $\alpha$  et  $\beta$ , respectivement, l'intercept avec l'ordonnée et la pente. La régression s'est faite sur base de 12 et 15 échantillons pour les sols 3 et 6, et de 6 échantillons pour le sol 4.

Pour chaque sol deux analyses différentes ont été réalisées, la première régression appelée « complète » se base sur l'entièreté des observations, selon la méthode de Declerck et al. (1996). La deuxième régression appelée « restreinte » ne prend pas en compte les résultats obtenus avec 100% de sol non-stérile. Cette deuxième analyse est inspirée des travaux de Plenchette et al (1989; 2000). Le plan d'expérience choisi pour les PIM est caractérisé par un nombre insuffisant et une répartition d'échantillons non adaptée à l'estimation précise de la complexité de la relation dans les zones extrêmes de concentration (1 et 100% de sol non stérile) (Plenchette, 2000). Ce qui se traduit, d'un point de vue mathématique, par l'obtention d'un modèle plus ajusté à la réalité lorsqu'il ne prend pas en compte la concentration maximale de sol non-stérile.



Pour chaque droite estimée, on a calculé le logarithme de pourcentage de sol non stérile nécessaire à la mycorhization de la moitié de la population, cela équivaut à réaliser une prédiction inverse pour un Y valant 0,5. Les intervalles confiance donnés à 95% sont des intervalles de prédiction.

Le résultat de la fonction antilog appliquée à cette prédiction donne le pourcentage de sol non stérile nécessaire à la mycorhization de la moitié de la population. Lorsque l'on multiplie ce dernier par la quantité de sol contenue dans un pot, à savoir 250g dans notre cas, nous obtenons le  $PIM_{50}$ , à savoir, la masse (en grammes) de sol non-stérile nécessaire à la mycorhization de la moitié de la population.

Une dernière transformation est utile pour obtenir le résultat désiré, à savoir la quantité d'unités  $PIM_{50}$  contenue dans 100g de sol. C'est le résultat en gris dans le tableau récapitulatif. Notons que cette dernière transformation inverse la hiérarchie des résultats obtenus. En effet, lorsque le potentiel mycorhizien augmente, le  $PIM_{50}$  diminue, tandis que la quantité d'unités  $PIM_{50}/100g$  de sol augmente également.

Les résultats des régressions et des prédictions inverses pour les sols testés sont présentés ci-dessous. chaque paramètre estimé fit l'objet d'un test de Student afin de tester afin de tester s'il diffère significativement de 0 .

#### 1.4. Résultats obtenus

Ces analyses ont été réalisées avec le logiciel statistique JMP9. Le suffixe « r » accolé aux numéros de sol indique qu'il s'agit de la régression « réduite », c'est-à-dire, sans la concentration 100% de sol non stérile.

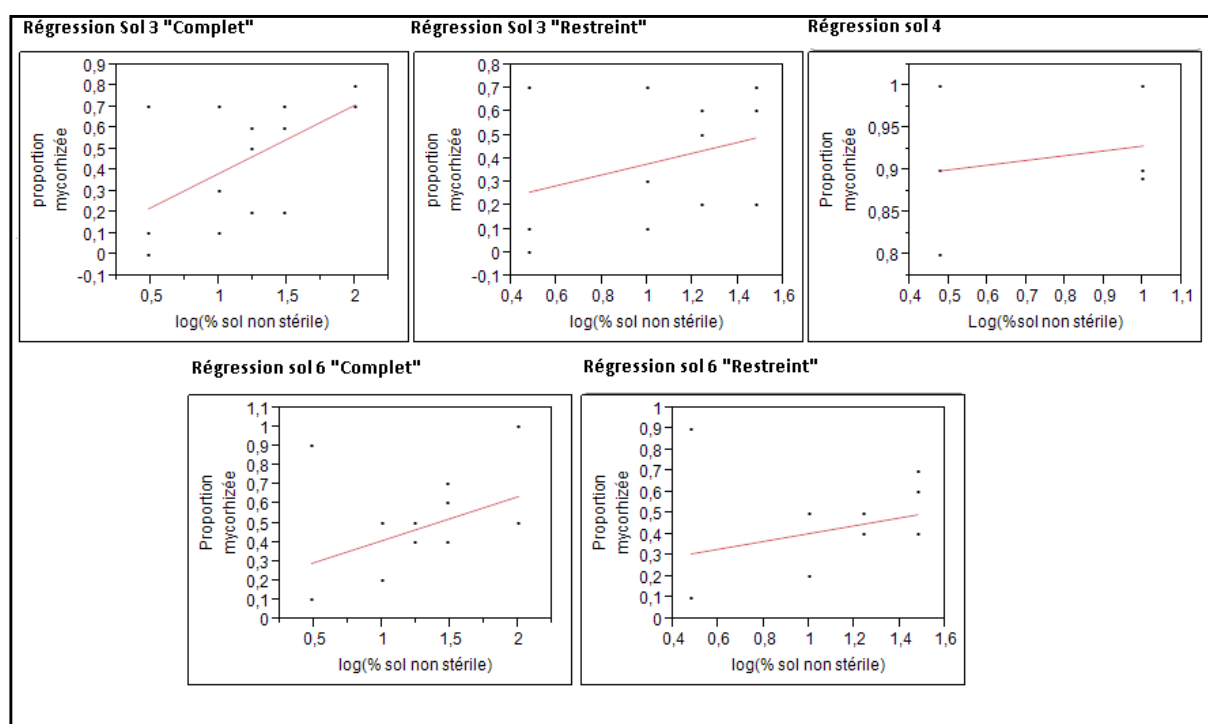


Figure 12: Graphiques des 5 régressions linéaires réalisées sur les trois sols PIM analysés (3,4 et 6)

Tableau 16 : Estimation des coefficients et tests de Student pour les 5 régressions PIM réalisées.

Estimation des coefficients de la pente et tests d'hypothèse : H0 : terme = 0						
sol3	Terme	Estimation	Ecart-type	rapport t	Prob.> t	décision
	intercept	0,065	0,162	0,400	0,694	H0 Acceptée
	pente	0,324	0,121	2,670	0,019	H0 Refusée
sol3r	Terme	Estimation	Ecart-type	rapport t	Prob.> t	décision
	intercept	0,149	0,229	0,650	0,530	H0 Acceptée
	pente	0,231	0,206	1,120	0,288	H0 Acceptée
sol4	Terme	Estimation	Ecart-type	rapport t	Prob.> t	décision
	intercept	0,873	0,101	8,610	0,001	H0 Refusée
	pente	0,057	0,129	0,440	0,684	H0 Acceptée
sol6	Terme	Estimation	Ecart-type	rapport t	Prob.> t	décision
	intercept	0,183	0,167	1,090	0,294	H0 Acceptée
	pente	0,229	0,125	1,840	0,089	H0 Acceptée
sol6r	Terme	Estimation	Ecart-type	rapport t	Prob.> t	décision
	intercept	0,223	0,212	1,050	0,319	H0 Acceptée
	pente	0,185	0,191	0,970	0,355	H0 Acceptée

Le Tableau 16 montre que pour le modèle estimé avec le sol 3, la mycorhization augmente significativement lorsqu'augmente la concentration de sol non-stérile. Pour le sol 4, la pente peut être considérée comme nulle, mais l'intercept diffère significativement de 0. Pour tous les autres modèles estimés, les paramètres peuvent être considérés comme nuls.

Tableau 17 : Prédictions inverses, PIM<sub>50</sub> et intervalles de confiance pour les 5 régressions estimées

PREDICTION INVERSE X = (Y - α)/β pour Y = 0,5				
sol3	Unité de X	Valeur	IC 95% Inf	IC 95% Sup
	log(% sol non stérile)	1,3	-1,3	4,3
	sol non stérile (g)	54,9	0,1	54380,1
	PIM50/100g de sol	1,8	729,4	0,0
sol3r	Unité de X	Valeur	IC 95% Inf	IC 95% Sup
	log(% sol non stérile)	1,5	-1,3	4,3
	sol non stérile (g)	82,2	0,1	53498,3
	PIM50/100g de sol	1,2	791,1	0,0
sol4	Unité de X	Valeur	IC 95% Inf	IC 95% Sup
	log(% sol non stérile)	-6,6	-	0,0
	sol non stérile (g)	6,55E-07	-	2,3
	PIM50/100g de sol	1,53E+08	-	42,7
sol6	Unité de X	Valeur	IC 95% Inf	IC 95% Sup
	log(% sol non stérile)	1,4	-1,0	3,8
	sol non stérile (g)	60,6	0,3	14470,5
	PIM50/100g de sol	1,7	394,4	0,0
sol6r	Unité de X	Valeur	IC 95% Inf	IC 95% Sup
	log(% sol non stérile)	1,5	-1,7	4,7
	sol non stérile (g)	78,8	0,0	136416,8
	PIM50/100g de sol	1,3	2194,7	0,0

La largeur aberrante des intervalles de confiance (Tableau 17) témoigne de l'existence d'un problème d'ajustement du modèle. Il serait dès lors inutile de tester la signifiante des différences entre les MSI estimés.

## 1.5. Analyses statistiques supplémentaires

Des analyses statistiques supplémentaires nous permettent d'étudier le niveau d'ajustement du modèle aux résultats de l'expérience, ainsi que la significativité des estimateurs calculés.

### 1.5.1. Défaut d'ajustement

La régression effectuée sur le sol 4, portant sur deux dilutions (ou points supports) différentes, ne possède pas assez de degrés de liberté pour l'estimation du défaut d'ajustement. L'erreur pure contient autant de degrés de liberté que l'erreur totale, à savoir 4.

Pour les 4 modèles analysés, nous pouvons accepter l'hypothèse d'absence de défaut d'ajustement avec un niveau de précision de 95% (Tableau 18).

Tableau 18 : Résumé des tests de défaut d'ajustement réalisés pour 4 régressions linéaires.

Defaut d'ajustement H0 : Modèle est correct						
Sol3	Source	DDL	somme carrés	carré moyen	rapport F	prob > F
	Erreur LOF	3	0,026	0,009	0,122	0,945
	Erreur pure	10	0,707	0,071		Décision
	Erreur totale	13	0,733			H0 Acceptée
Sol3r	Source	DDL	somme carrés	carré moyen	rapport F	prob > F
	Erreur LOF	2	0,001	0,001	0,006	0,994
	Erreur pure	8	0,700	0,088		Décision
	Erreur totale	10	0,701			H0 Acceptée
Sol6	Source	DDL	somme carrés	carré moyen	rapport F	prob > F
	Erreur LOF	3	0,066	0,022	0,311	0,818
	Erreur pure	10	0,707	0,071		Décision
	Erreur totale	13	0,772			H0 Acceptée
Sol6r	Source	DDL	somme carrés	carré moyen	rapport F	prob > F
	Erreur LOF	2	0,060	0,030	0,446	0,655
	Erreur pure	8	0,540	0,068		Décision
	Erreur totale	10	0,600			H0 Acceptée

### 1.5.2. Analyse de la qualité d'ajustement

Nous voyons que  $R^2$ , la proportion de la variabilité totale expliquée par la variabilité du modèle, est assez faible pour tous les sols ; la réalisation d'estimations « restreintes » a pour conséquence de diminuer encore la force de l'ajustement. Cela est encore plus vrai lorsqu'on s'intéresse au  $R^2a$ , qui tient mieux compte du nombre de données disponibles (Tableau 19).

Tableau 19 : Résumé de la qualité d'ajustement des 5 modèles

Evaluation de la qualité de l'ajustement						
Mesure		Sol 3	Sol 3r	Sol4	Sol6	Sol6r
Coefficient de détermination	R <sup>2</sup>	0,354	0,112	0,046	0,206	0,086
Coefficient de détermination ajusté	R <sup>2a</sup>	0,304	0,023	-0,193	0,145	-0,005
Ecart type résiduel	S	0,237	0,265	0,083	0,244	0,245

## 2. Les estimations MPN

Le Tableau 10 nous indique que seulement quatre tests ont donné lieu à un nombre suffisant de plantules vivants, permettant de faire une analyse statistique. Il s'agit des sols 3, 7, 9 et 10.

Aucune colonisation racinaire par des CMA n'a été observée chez les témoins (sols stérilisé) de ces quatre sols. Ces résultats démontrent l'efficacité du processus de stérilisation des sols à l'autoclave ainsi que des mesures anticontaminations de CMA adoptées pendant toute la phase expérimentale.

### 2.6. Calculs

#### 2.6.1. L'estimateur MPN

La méthode de calcul du MPN est détaillée en exemple pour le sol 9. A partir de la présence ou absence de mycorhization observées dans les racines de *C. retusa* ayant poussé sur les différentes dilutions.

Le calcul de MPN a été réalisé selon la méthode de Fisher et Yates (1949), dont les détails se trouvent dans la section « revue bibliographique ». Le MPN s'estime selon la formule suivante :

$$\text{LogMPN} = (x \cdot \log a) - K$$

Dans notre cas, les paramètres de l'équation ci-dessus prennent les valeurs suivantes (voir Tableau 20) :

Le nombre moyens de positifs par répétition  $x = 8/3 = 2,67$

Le facteur de dilution  $a = 2$

Le nombre moyen de négatifs par répétition  $y = 12 - 2,67 = 9,33$

Le nombre de répétitions  $n = 3$

Le nombre de niveaux de dilution  $S = 12$

Tableau 20 : Données obtenues pour l'estimation du MPN pour le sol 9. (+) Signifie que la racine observée était mycorhisée.

Dilution	Rép 1	Rép 2	Rép 3	Total mycorhizées
1	+	+	+	3
1/2	+	-	+	2
1/4	-	+	-	1
1/8	-	-	-	0
1/16	-	-	-	0
1/32	-	-	-	0
1/64	-	-	-	0
1/128	+	-	-	1
1/256	-	-	+	1
1/512	-	-	-	0
1/1024	-	-	-	0
1/2048	-	-	-	0
T		-		0

Les tables de Fisher and Yates (1949) (voir Annexe 3) donnent le paramètre K en fonction de x et S. La valeur de x obtenue ne se trouvant pas dans les tables, il faut réaliser une interpolation linéaire de K à partir des valeurs les plus proches se trouvant dans les tables, à savoir : 2,5 et 3.

Les tables donnent :

$$K_{(x=2,5)} = 0,405$$

$$K_{(x=3)} = 0,402$$

On interpole :

$$K = \frac{0,402 - 0,405}{3 - 2,5} (2,67 - 2,5) + 0,405 = 0,404$$

On trouve le logarithme de l'estimateur MPN du nombre de propagules par pot non dilué, à l'aide de la formule plus haut

$$\text{LogMPN} = (2,67 \cdot \log 2) - 0,404 = 0,3987$$

$$\text{MPN} = \text{Antilog } 0,3987 = 2,5052$$

Nous obtenons donc le nombre estimé de propagules contenues dans un pot de sol non dilué.

Chaque pot contenant 25g de sol, il suffit de multiplier le résultat précédent par 4 pour avoir le MPN exprimé en nombre de propagules par 100g de sol.

**MPN = 10,021 PROPAGULES PAR 100G DE SOL**

### 2.6.2. Les intervalles de confiance

Cochran(1950) définit une formule approximant SE, l'écart-type de logMPN dont la distribution est proche de la loi normale.

$$SE = 0,55 \sqrt{\frac{\log a}{n}} = 0,174$$

L'intervalle de confiance à 95% s'obtient de la manière suivante :

$$IC (95\%) = \log MPN \pm 2SE = 0,397 \pm 0,348$$

Pour trouver les limites inférieures et supérieures, il suffit, respectivement, de diviser et multiplier la valeur MPN estimée, par  $\text{antilog}(0,348)$ . Ce facteur dans notre cas, équivaut à 2,23.

Le MPN avec son intervalle de confiance à 95% vaut :

$$MPN (IC 95\%) = 10,02 (4,49 ; 22,34)$$

## 2.7. Résultats obtenus

Tableau 21 : Résumé des MPN estimés et intervalles de confiance pour les quatre sols analysés

Sol			Plante-test	MPN	IC 95%	
Numéro	Localité	Parcelle			Inférieur	Supérieur
				Propagules infectieuses par 100g de sol		
3	Basse-Pointe	Ananas	M. sativa	12,68	5,68	28,27
7	Gros Morne	Plantain	C. retusa	12,68	5,68	28,27
9	Sainte-Marie	Plantain	C. retusa	10,02	4,49	22,34
10	Le Lorrain	Plantain	C. retusa	7,86	3,52	17,52

## 2.8. Tests d'égalité des estimations

Nous pouvons constater que les valeurs estimées sont proches. Toutefois, il convient de faire un test d'hypothèse d'égalité afin de pouvoir infirmer ou confirmer la significativité des différences.

Les sols numéro 7 et 9 vont servir d'exemple au développement mathématique. Comme vu précédemment l'estimateur logarithmique  $\log MPN$  suit une distribution quasi-normale.

Posons les hypothèses suivantes :  $H_0$ , les MPN des sols 7 et 9 sont égaux.  $H_1$ , les MPN des sols 7 et 9 sont différents. Il s'agit donc d'un test d'hypothèse bilatéral.

Sous H0, les moyennes des deux sols sont égales, de sorte que l'on peut écrire Z, la statistique test, obéissant à la loi normale réduite.

$$Z = \frac{\log MPN_7 - \log MPN_9}{\sqrt{\text{Var}(\log MPN_7) - \text{Var}(\log MPN_9)}} = \frac{\log MPN_7 - \log MPN_9}{0,55 \sqrt{\frac{2 \log(a)}{n}}} \sim N(0; 1)$$

$$Z = \frac{0,5010 - 0,3987}{0,2464} = 0,4152$$

Les tables de la loi normale réduite nous donnent pour ce Z une p-valeur de 0,3409, celle-ci étant plus grande que le seuil d'acceptation  $\alpha = 0,05$ . L'hypothèse H0 est acceptée, la différence entre les deux MPN estimés n'est pas significative.

Le tableau suivant reprend les résultats des tests d'hypothèses réalisés entre les différents MPN. Le Sol numéro 3 n'a pas été comparé aux autres pour deux raisons, d'une part la distribution de son MPN est égale à celle du sol 9, et d'autre part, la plante-test utilisée pour ce sol est différente. D'après les considérations sur l'influence de la plante-test sur le résultat de l'expérience, présentées dans la revue bibliographique, l'on peut comprendre qu'il n'y a pas lieu de comparer ce sol aux autres.

Tableau 22 : Résultat des tests d'hypothèses sur l'égalité des MPN estimés

H0 = Egalité des estimateurs			Seuil de décision $\alpha=0,05$	
Numéro des sols testés		Z : Statistique-test	p-valeur	décision
7	9	0,4151	0,339	H0 Acceptée
7	10	0,8426	0,200	H0 Acceptée
9	10	0,4280	0,334	H0 Acceptée

# Troisième partie : Données pédoclimatiques des parcelles échantillonnées

---

Le Tableau 24 résume les données collectées pour les différents sols. Les données physico-chimiques ont été produites par le laboratoire d'analyse du sol du PRAM-Martinique. Une partie de ces analyses porte sur les sols ananas récoltés dans le cadre de ce travail, quant aux analyses de sols banane plantain, elles portent sur des échantillons provenant des mêmes parcelles échantillonnées dans le cadre de ce travail mais pas sur les mêmes échantillons.

Les abréviations utilisées dans la typologie des sols proviennent de Colmet-Daage et al. (1965), elles sont très brièvement explicitées dans le tableau suivant. La carte des principaux types de sol de Martinique se trouve en annexe 2

Tableau 23 : Liste des abréviations pour la typologie des sols analysés (Colmet-Daage et al., 1965).

Fe	Ferrisols compacts
Ha	Sols brun-rouille à Halloysite
Ha-Fe	Intergrades Sols bruns-rouille à Halloysite/Ferrisols compacts
Jh	Sols peu évolués sur cendre, sableux humifères, particuliers sans cohésion allophanique. L'évolution normale est l'apparition d'Halloysite
Pb	Sols relativement peu évolués, à allophane sur cendre et ponce, sableux humifères avec une cohésion allophanique faible, mais très nette des mottes.
Pc	Sols relativement peu évolués, à allophane sur cendre et ponce, sableux à sablo-limoneux avec une cohésion allophanique faible, mais très nette des mottes.



Tableau 24 : Données géographiques, pédologiques et physico-chimiques des sols étudiés. Réalisé par l'auteur à partir de sources multiples.

Numéro du sol		Unités	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Exploitation		-	Golvet	Nadin	Gradis	CIRAD	Aubery	Terne	Boniface	Sejean	Drane	Zeleta	Votier
Culture			Ananas (fin de cycle)	Jachère 6 semaines (précédent ananas)	Ananas	Ananas	Ananas	Jachère > 1 an (précédent ananas)	Plantain	Plantain	Plantain	Plantain	Plantain
Localité			Morne Rouge	Ajoupa-Bouillon	Basse-Pointe	Rivière-Lezarde	Basse-Pointe	Morne Des Esses	Gros Morne	Sainte-Marie	Sainte-Marie	Le Lorrain	Vert-Pré
Type de sol			Pc	Pb	Pb	Ha	Jh	Pc	Pc	Ha-Fe	Ha	Pb	Fe
Précipitations		mm/an	5000-5500	4500-5000	4500-5000	3500-4000	4000-4500	4500-5000	2500-3000	2500-3000	2500-3000	3500-4000	2500-3000
Altitude		m	425	350	250		150	350	179	143	131	389	134
Température annuelle moyenne		°C	22,62	23,33	23	25,8	25	23,3	25,5	26	25,75	25,25	25,5
pH (H <sub>2</sub> O)		-	5,87	4,92	6,02	5,59	5,15	6	5,72	4,91	5,39	6,09	5,15
CEC		meq/100g	4,6	5,37	5,56	15,99	5,58	8,1	17,07	34,32	23,35	20,2	19,26
Bases échangeables (extraction à l'acétate)	K		0,2	0,18	0,16	1,16	1,46	0,17	0,52	0,24	1,18	0,23	1,39
	Ca		3,95	2,68	5,02	7,11	6,51	3,5	6,99	6,1	7,18	4,36	3,48
	Mg		0,72	0,32	0,59	1,79	1,12	0,32	2,53	2,68	1,63	1,05	1,39
Méthode TRUOG	P	mg/kg	7,5	7,69	10,19	13,7	8,73	6,81	27,17	105,67	24,22	3,56	12,67
Matière organique		g/g	7,84	9,09	7,09	3,15	6,5	5,24	6,9	2,64	3,26	5,93	4,12
Carbone			4,55	5,27	4,11	1,83	3,77	3,04	4	1,53	1,89	3,44	2,39
Azote total			0,41	0,48	0,4	0,16	0,38	0,25	0,46	0,17	0,22	0,36	0,26
C/N		-	11,02	11	10,35	11,44	9,82	12,21	8,79	8,95	8,59	9,5	9,34
Exprimé en sol frais	NH4+	mg/kg	1,12	1,4	1,12	1,2	10,32	3,52	1,76	4,12	8,23	1,06	5,28
	NO3-		17,87	1,36	6,44	7,64	66,79	10,2	11,12	5,8	6,71	12,24	10,32
Humidité relative 105°C		%	29,52	36,17	31,46	28,31	26,04	42,33	38,32	24,42	25,45	38,91	31,15

# Quatrième Partie, Données agronomiques des parcelles bananières

---

## 1. Préambule

Au préalable, rappelons que la prétention de ce travail n'était pas de dresser un bilan des systèmes agraires rencontrés. Les enquêtes réalisées avaient pour seul but de dégager des corrélations entre certaines pratiques culturales et les densités de propagules estimées. C'est pourquoi, en raison de la qualité et la quantité des estimations réalisées, nous ne pouvons que nous contenter de commenter brièvement les résultats des enquêtes réalisées.

## 2. La trame d'enquête

Les trois tableaux ci-dessous résument les informations récoltées selon les quatre axes principaux explicités dans la section « matériel et méthodes ».

Ces axes sont : (a) Le type et la distribution de la population végétale, (b) l'intensité et la fréquence des travaux du sol, (c) les pratiques culturales au moment de la plantation et (d) les pratiques culturales au moment du prélèvement.

Notons que les plants des cinq parcelles visitées proviennent de parcelles voisines. Notons aussi qu'étant donné la jeunesse de la parcelle d'où fut récolté le sol numéro 11, les informations sur les pratiques culturales sont toutes regroupées dans le Tableau 25.

Tableau 25 : Résumé des informations récoltées dans les cinq parcelles de plantain visitées. Données concernant : (a) la population végétale ; (b) les travaux du sol

(a) Evolution et configuration de la population végétale						
Numéro de sol		7	8	9	10	11
Age de la parcelle	mois	20	49	47	20	2
Numéro de cycle	-	2	4	4	2	0
Précédents culturaux : du plus récent au plus ancien	espèce (durée en mois)	jachère enherbée + pâturage (12)	jachère enherbée (18)	jachère enherbée + pâturage (6)	Jachère enherbée (6)	Jachère enherbée (1)
		plantain (24)	tomate (6)	Plantain (48)	Piment (6)	concombre (3)
Disposition des bananiers	-	carré	quinconce	quinconce doublé	quinconce	carré
Distance moyenne entre bananiers	m	2,5	2	1,825	2,9	3
Association culturale	-	OUI	NON	NON	NON	NON
Culture associée et niveau de recouvrement	-	Giraumon (5)	-	-	-	-
Niveau de recouvrement pas les adventices	-	3	2	6	4	6
(b) Travail du sol						
Type de travail	-	Labour	Labour	Labour + sous-solage	Labour	Labour
Nombre de labours sur la durée de la plantation	-	1	1	2	1	1
Temps écoulé depuis dernier	mois	20	49	47	20	2

Pour ce qui est de la communauté végétale (Tableau 25 a), dans les cinq parcelles visitées, nous remarquons la pratique de rotations culturales. Au moment du prélèvement, les parcelles étaient fortement recouvertes d'adventices ou de cultures associées (mis à part le sol numéro 8).

Quant au travail du sol : Les fréquences et types de labour sont semblables pour tous les sols étudiés (sauf pour le sol 7), ceux-ci ne varient que dans la proximité temporelle entre les labours et les prélèvements effectués.

Tableau 26 : Résumé des informations récoltées dans les cinq parcelles de plantain visitées. Données concernant les pratiques réalisées dans les cinq mois autour de la plantation

( c ) Pratiques culturales pendant les deux mois précédant et les trois mois suivant la plantation						
Numéro de sol		7	8	9	10	11
fongicides		OUI	OUI	NON	NON	OUI (1 mois avant la plantation)
	Produit (Matière active)	CRESYL (composés phénoliques)	CRESYL (composés phénoliques)			Ortiva (azoxystrobine)
	Action	Désinfectant à large spectre	Désinfectant à large spectre			Fongicide systémique
	Moment d'application	A la plantation	A la plantation			6 sem. avant plantation (concombre)
Herbicides		OUI	OUI	OUI	OUI	OUI (2 mois avant plantation)
	Produit (Matière active)	Touchdown (glyphosate)	Touchdown (glyphosate)	Touchdown (glyphosate)	Basta (glufosinate)	Touchdown (glyphosate)
	Action	Systémique non-sélectif	Systémique non-sélectif	Systémique non-sélectif	Systémique non-sélectif	Systémique non-sélectif
	Temps entre deux applications (sem)	15	10	15	15	1 seule application
fertilisants minéraux		OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
	Formulation	N-P-K	20-10-20	15-12-24	18-46-0	12-4-41
	Temps entre deux applications	jours	22	15	15	15
Fertilisants organiques		OUI	NON	OUI	OUI	NON
	Composé	Urée		Compost	Fumier de volaille	
	Applications sur 3 mois	1		1	1	
	Moment d'application	A la plantation		A la plantation	A la plantation	

A la plantation (Tableau 26), nous remarquons que les systèmes sont assez riches en intrants, qu'ils soient fertilisants, herbicides ou fongicides. Ces trois facteurs jouent des rôles respectifs dans (i) la réceptivité des plantes aux CMA, (ii) la diminution d'hôtes alternatifs et par extension de la population de CMA, et (iii) la diminution possible de la survie des CMA. Comme vu précédemment, l'utilisation de fongicides, dans les phases précoces de croissance de la plante et d'établissement de la symbiose peut s'avérer particulièrement problématique pour les CMA (Plenchette et al., 2005). Notons cependant que les plants dans toutes les parcelles visitées proviennent de parcelles voisines (et non pas de vitroplants indemnes de mycorhizes à l'instar des bananes d'exportation), et sont donc très probablement colonisées par des CMA avant leur plantation.

Tableau 27 : Résumé des informations récoltées dans les cinq parcelles de plantain visitées. Données concernant les pratiques réalisées dans les trois mois précédant le prélèvement

<b>(d) Pratiques culturales pendant les trois derniers mois avant prélèvement</b>					
<b>Numéro de sol</b>		<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>Fongicides</b>		NON	NON	NON	OUI
	<b>Produit (Matière active)</b>				huiles paraffiniques incorporées de triazoles
	<b>Action</b>				fongicide de contact et systemique
	<b>Applications</b>				1
<b>Fertilisants minéraux</b>		NON	OUI	NON	OUI
	<b>Formulation</b>	<b>NPK</b>		14-04-28	
	<b>Temps depuis dernière application (mois)</b>		1		1
<b>Fertilisants organiques</b>		OUI	NON	NON	OUI
	<b>Composé</b>	fumier en grains			fumier de poule
	<b>Temps depuis dernière application (mois)</b>	2			0,5

Les conditions existantes lors des prélèvements sont bien différentes de celles du paragraphe précédent. Ces conditions correspondent pour quatre sols sur cinq à des parcelles où se sont déjà écoulés plusieurs cycles de productions. En effet, l'utilisation d'intrants semble devenir bien plus extensive, avec quelques rares applications foliaires de fongicides contre les cercosporioses ou encore l'application régulière mais plus espacée qu'au début, de fertilisants soit organiques, soit minéraux.

# Chapitre quatre :

## Discussion des résultats

# Introduction

---

La structure de cette section du travail respecte l'ordre dans lequel les résultats sont présentés. Ainsi, les quatre premières parties de la discussion des résultats traitent respectivement de l'analyse des taux de mortalité, des estimations PIM, des estimations MPN, et finalement des données agronomiques récoltées. Dans ces parties, les résultats produits sont analysés verticalement, c'est-à-dire que chaque type de résultat est confronté individuellement aux théories sous-jacentes à la production ou à la signification de celui-ci.

Les parties suivantes contiennent des confrontations horizontales entre différents types de résultats obtenus et la théorie emmagasinée lors de ce travail. Cette approche se justifie par certains objectifs de ce travail, comme la confrontation des estimations obtenues avec les données agro-édapho-climatiques récupérées (quatrième partie) ou la comparaison des deux méthodes d'estimation (cinquième partie).

Pour finir, la sixième et dernière partie de cette section traite des perspectives de ce travail et plus particulièrement du rôle des estimateurs utilisés dans la gestion agronomique des champignons mycorhiziens à arbuscules.

# Première Partie : Analyse des taux de mortalité.

---

## 1. Préambule

Une contrainte majeure de ce travail a été le taux de mortalité particulièrement élevé des plantes pièges. Ceci a rendu les analyses de densité de population particulièrement difficile, voire impossible pour plus de la moitié des sols. Il est, dès lors, essentiel, d'identifier les facteurs responsables de cette mortalité élevée.

## 2. Inférences statistiques

### 2.1. Variables explicatives

Dans un premier temps, trois variables explicatives ont été considérées.

#### 2.1.1. Le modèle d'étude (MPN ou PIM)

Trois différences majeures existent entre les MPN et les PIM. (i) Le nombre de plantes par pot, (ii) La quantité de sol par pot (respectivement 25 et 150g pour MPN et PIM). (iii) le temps d'expérimentation respectivement 2 et 6 semaines pour MPN et PIM).

#### 2.1.2. Le sol utilisé

Différentes caractéristiques des sols peuvent avoir un impact sur le développement et la viabilité des plantes parmi lesquelles la présence de pathogènes et les caractéristiques physico-chimiques.

#### 2.1.3. L'espèce végétale choisie

Nous pouvons bien évidemment soupçonner l'existence d'une corrélation entre la « fitness » (la survie) de la plante et l'espèce à laquelle elle appartient. La crotalaire se distingue de la luzerne par son aspect local et par extension, une meilleure adaptation aux sols testés

## 3. Analyse du modèle estimé

Le modèle estimé ne s'ajuste que très faiblement à la réalité ( $R^2 = 0,433$  ;  $H_0$  :  $Y$ =moyenne acceptée avec une p-valeur de 0,93), c'est peut-être dû au manque de données disponibles par rapport au nombre de facteurs, les mesures de mortalité ne sont peut-être pas assez précises pour en tirer des conclusions. Cela peut également suggérer que les taux de mortalité observés n'ont pas de corrélation significative avec les paramètres étudiés.

Lorsqu'on s'intéresse aux tests de signifiante de chaque facteur pris séparément, nous ne pouvons que conclure à la signification de l'espèce végétale utilisée. En d'autres termes, l'utilisation de *C. retusa* pour le deuxième cycle de MPN réalisé a permis d'améliorer notablement la survie des plantes. Nous pouvons donc suggérer que *C. retusa* est plus adaptée aux conditions expérimentales de l'étude.



#### 4. Hypothèses sur le taux de mortalité élevé

Toutefois, la baisse de mortalité due à l'utilisation de *C. retusa* ne fut pas suffisante, les cinq nouveaux tests réalisés ont tout de même échoué pour deux sols (8 et 11). D'autres hypothèses doivent, dès lors, être considérées :

##### 4.2. Facteurs liés aux nécessités de l'expérience

- La compétition entre plantes fut suspectée, lorsque dans les PIM, chaque pot en contient 10. Cependant, cette hypothèse ne semble pas viable car les différences de taux de mortalité ne s'observent pas entre les expériences MPN et PIM. Cela est confirmé par Plenchette et al. (1989) qui suggèrent que la brièveté de la phase de croissance (14 jours), implique que les plantes dépendent majoritairement de leurs réserves contenues dans la graine. Ce qui réduit ainsi les potentielles compétitions pour les nutriments entre systèmes racinaires.

- Pour les MPN, l'absence de fertilisation tout au long des six semaines de croissance n'améliore peut-être pas la vitalité des plantes. Cependant la nécessité de ne pas fertiliser à déjà été discutée précédemment. Toutefois ce facteur ne semble pas très important dans notre cas pour deux raisons. D'une part les sols sont supposément riches car ils proviennent de parcelles cultivées. D'autre part les plantes meurent très tôt.

- Les sols stérilisés peuvent être des facteurs de mortalité : Bien que nous n'ayons pas observé de manière flagrante plus de mortalité dans les pots plus concentrés en substrat stérile, nous ne pouvons pas infirmer cette hypothèse sans l'appui d'un suivi plus précis de la mortalité en fonction des dilutions.

Dans certains sols, le processus de stérilisation à chaud réalisé dans l'autoclave peut libérer des molécules organiques phytotoxiques (Rovira and Bowen, 1966). Nous avons pris contre cela la précaution simple de laisser reposer le sol pendant quelques jours. Cela peut en effet réduire la toxicité<sup>10</sup>. Toutefois, si les sols stériles contiennent toujours des substances nocives pour la plante, des précautions supplémentaires doivent être prises :

Il existe d'autres modes de stérilisation comme l'irradiation avec des rayons gamma (Declerck et al., 1996), mais nous n'y avons pas accès. De plus, comme indiqué dans la revue bibliographique, des techniques de détoxification existent : le lessivage des molécules par rinçage du sol (Rovira and Bowen, 1966), ou encore la réintroduction de la population initiale de microorganismes (exemptes de CMA) (Adelman and Morton, 1986). Cependant, la première technique est difficile à réaliser dans des conditions stériles et pour le volume de sol utilisé. Tandis que la deuxième semble trop laborieuse pour des procédures comme les MPN et PIM qui se veulent routinières.

Notons enfin que la stérilisation a aussi pour effet de libérer une niche qui peut être rapidement recolonisée par certains microorganismes.

- La finesse du sol due au tamisage à 2mm est indispensable aux mélanges effectués. Cependant cette finesse peut-être responsable d'une mauvaise structure ou d'un tassement du sol, agissant en tant que barrière physique ou causant aux racines des problèmes de bilan hydrique ou

---

<sup>10</sup> Affirmation résultant d'un entretien avec le Pr. Stephan Declerck, octobre 2011

encore d'anoxie. L'odeur caractéristique de fermentation anaérobie constatée dans certains pots encense cette hypothèse.

#### **4.3. Facteurs liés aux manipulations pendant la phase de croissance**

- L'arrosage fut la seule manipulation durant la phase de croissance à proprement parler. Il a été observé au cours de l'expérience que la réaction à l'arrosage des sols était différente. Certains se gorgeaient d'eau et restaient humides longtemps, d'autres en retenaient peu et séchaient très vite. Pour chaque sol, l'arrosage devait dès lors être adapté pour ne pas induire des stress liés à un trop peu ou à un surplus d'eau. La grande quantité de pots à arroser rendait cependant difficile cette adaptation. Notons que les pots étaient disposés afin de rendre possible l'arrosage par le bas, donnant à la plante une réserve d'eau toujours disponible et empêchant le dessèchement d'avoir lieu. Toutefois, ce type d'arrosage a été abandonné au profit d'un arrosage par le haut pour les sols qui, visiblement, avaient un grand pouvoir de rétention hydrique.

#### **4.4. Facteurs liés aux conditions de croissance**

- Présence de mycélia potentiellement pathogènes : Comme vu précédemment, tant l'observation macroscopique des sols que l'observation microscopique des racines ont révélé la présence de mycélia divers. Aucun lien n'a put être fait entre ces deux observations. De plus, aucune relation ne put être établie entre les filaments observés à l'œil nu et le taux de mortalité. Le mycélium fut, par exemple observé dans tous les pots MPN du sol 10, où le taux de mortalité est nul. La présence de mycélium non mycorhizien fut observée au microscope autour des racines pour tous les sols et dans toutes les expériences. Bien les racines issues du PIM sol 4 étaient les plus intensément infestées. Rappelons que les plantes issues du sol 4 furent celles qui, parmi les plantes observées, comptaient le plus de morts (58/160). Cela semble simplement s'agir d'une coïncidence. Les mycéliums observés semblent saprophytes et aucune nécrose racinaire n'a été observée.

Leur présence également constatée dans les sols stériles nous permet de confirmer leur transmission par le milieu ambiant, et de suspecter la pièce de culture d'avoir un grand potentiel contaminant.

- L'Intensité lumineuse dans la pièce de culture ne put être déterminée, cependant, son irrégularité et son incidence oblique nous permettent de suggérer son infériorité par rapport aux conditions en serre ou en chambre de culture. Le manque de lumière à donc vraisemblablement agi en tant que facteur limitant pour la croissance des plantes.

#### **4.5. Le bilan de la situation**

En résumé, l'occurrence de taux de mortalités si élevés peut être vue comme la résultante d'une combinaison de plusieurs facteurs agissant sur les plantes.

Les facteurs prépondérants suspectés furent les propriétés physiques et chimiques du sol responsables de leur compaction et d'un mauvais drainage des sols rendant la croissance des jeunes plantes particulièrement problématique. Il existe dans la littérature des méthodes de dilution des sols testés avec des substrats standards possédant une meilleure structure. L'utilisation de ces substrats engendre toutefois des erreurs dans l'estimation. En effet, avec cette méthode, la structure chimique du sol varie avec la concentration de sol testé, de plus l'infectivité des propagules

est biaisée par des conditions physicochimiques différentes affectant la germination des CMA et la colonisation des plantes (Plenchette, 2000).

Les conditions environnementales de croissance contribuent également (mais dans une moindre mesure) aux taux de mortalité. Les procédés expérimentaux des MPN et PIM sont intrinsèquement non-optimaux pour la croissance des plantes, et dans le cadre de ce travail, viennent s'ajouter les facteurs présumés délétères des conditions de croissance.

Nous pouvons dès lors comprendre qu'outre l'évitement de contaminations par des CMA, l'utilisation de chambres de cultures trouve toute sa justification pour les MPN et les PIM. En effet, les conditions de croissance y sont contrôlées afin d'être optimales pour les plantes. Leur utilisation est d'ailleurs abondamment relatée dans la littérature (Porter, 1979; Plenchette et al., 1989; Declerck et al., 1996, 1999; Plenchette, 2000; Saint-Etienne et al., 2006; Gaidashova et al., 2010).

L'unique alternative relatée est la croissance en serre (Wilson and Trinick, 1983; Adelman and Morton, 1986; An et al., 1990). Notons toutefois que ces derniers auteurs ont également tous recours à la fertilisation et ce, indépendamment du temps de croissance qu'ils préconisent, qui varient de 4 (Wilson and Trinick, 1983) à 9 semaines (An et al., 1990). Si l'on postule que les serres présentent des conditions moins optimales que les chambres de culture, nous pouvons voir la fertilisation comme une technique pour améliorer la vigueur des plantes. A la lumière de l'unanimité de ce choix, cette technique semble incontournable lorsque l'on se trouve pas dans des conditions suboptimales, et ce, en dépit des influences négatives que l'ajout de fertilisants peut avoir sur l'estimation du potentiel infectieux mycorhizien.

# Deuxième Partie : Analyse des résultats des PIM

---

## 1. Modèles statistiques linéaires

### 1.1. Faiblesse de l'ajustement

Les valeurs de  $R^2$  et  $R^2_a$  sont faibles, cela pourrait signifier que la corrélation entre les deux variables étudiées est faible (concentration de sol non stérile et pourcentage de plantes mycorhizées), ce qui n'est pas probable, étant donné les connaissances accumulées sur la biologie des CMA. Nous n'admettons pas non plus l'hypothèse de la planification expérimentale comme source de faiblesse d'ajustement. Les concentrations utilisées et les répétitions choisies correspondent aux travaux de différents auteurs (Plenchette et al., 1989; Declerck et al., 1996; Plenchette, 2000), qui obtinrent des  $R^2$  bien supérieurs.

Une autre explication possible à ces valeurs, est une trop grande variabilité expérimentale, résultant par exemple, de la présence de bruits altérant la qualité d'un signal trop faible ou mal perçu. Cette hypothèse est d'autant plus probable qu'elle correspond aux problèmes rencontrés lors de l'observation des systèmes racinaires : le rapport bruit (mycélium divers présents)-signal (structures mycorhiziennes) était trop grand pour permettre une bonne détection des mycorhizes.

Les régressions « réduites » des sols 3 et 6 ont des  $R^2$  inférieurs par rapport aux modèles « complets » équivalents. La non prise en compte du taux de plantes mycorhizées lorsqu'il y a 100% de sol non-stérile n'améliore donc pas la correspondance modèle entre modèle et réalité.

### 1.2. Défaut d'ajustement

L'acceptation de  $H_0$  pour toutes les estimations réalisées suggère, malgré la variabilité expérimentale que la transformation logarithmique utilisée, ainsi que le modèle linéaire choisi sont adaptés au phénomène réel.

### 1.3. Estimations et prédictions

#### 1.3.1. $PIM_{50}$

La largeur aberrante des résultats de  $PIM_{50}$  estimés découle directement de la faiblesse d'ajustement du modèle. Il en va de même pour les tests d'hypothèses réalisés sur les coefficients estimés pour chaque régression, qui permettent d'affirmer leur non signifiante, à deux exceptions près : la pente de la régression complète du sol 3, et l'intercept du sol numéro 4. Ces valeurs peuvent toutefois être des artefacts.

#### 1.3.2. Pente des régressions

Toutes les pentes estimées sont positives, ce résultat était bien évidemment attendu, car, qu'il s'agisse de vrais ou de faux positifs, il est normal que leur proportion augmente avec la quantité de sol non-stérile. Cependant il peut aussi s'agir d'un biais introduit par l'observateur (voir « améliorer la précision des observations »)

Toutefois, la proximité de 0 des pentes estimées ( $H_0$  acceptée pour tous les tests d'hypothèse) pourrait suggérer la présence de contaminations entre les pots ou à partir d'une source extérieure, bien que cet effet soit caché par les larges intervalles de confiance des régressions. Le processus expérimental a été construit de façon à minimiser la contamination de CMA, mais la pièce où eurent lieu les phases de croissance, présente un grand potentiel contaminant, contenant beaucoup de recoins, un système centralisé d'aération, et habituellement affectée à un laboratoire où des manipulations de sol et de matériel végétal étaient courantes. Cela expliquerait la présence de CMA et d'autres champignons pathogènes et saprophytes (faux-positifs potentiels) en pareille quantité dans toutes les dilutions de sol. Les observations de certains systèmes racinaires soutiennent cette hypothèse, comme ceux du sol 4, entourés d'une grande quantité de mycélium, bien qu'ayant poussés dans des sols stériles à 90% ou 97%. Cette très forte présence dans des sols fortement stériles et après une si courte période de croissance nous fait pencher pour le caractère saprophytique des champignons observés. Ceux-ci ont un potentiel de croissance très important, d'autant plus exprimé par la niche écologique libérée par la stérilisation. Le rajout d'une fine couche de sable à la surface des pots pourrait réduire cette contamination (Fischer et al., 1994).

### **1.3.3. Intercepts des régressions**

Les intercepts estimés sortent du domaine expérimental et ne correspondent pas à une valeur réelle. Toutefois ces valeurs estimées devraient être négatives (car pour les très petites concentrations, le modèle linéaire est peut-être inadapté) ou du moins nulles, les résultats de PIM trouvés dans la littérature le confirment (Plenchette et al., 1989; Plenchette, 2000). Le fait qu'ils soient positifs voudrait dire qu'un sol totalement stérile serait capable d'initier des mycorhizations (ce qui est impossible dans une période si courte). L'intercept significativement positif obtenu pour le sol 4 peut donc être le résultat d'un trop petit nombre de points supports (2), ou de l'occurrence d'infections ou des mauvaises observations expliquant les valeurs de mycorhization très élevées pour des petites concentrations.

## **2. Améliorer la précision des observations**

A l'issue des observations, nous pouvons affirmer que les CMA éventuellement présents ne produisent pas de structures mycorhiziennes intraracinaires reconnaissables, rendant plus difficile leur reconnaissance parmi les autres champignons présents.

Ce mauvais rapport bruit-signal peut être la conséquence d'un mauvais processus expérimental. Bien que les méthodes utilisées soient très proches de celles relatées dans la bibliographie, quelques différences majeures pourraient expliquer la piètre qualité des résultats, comme : (i) Les conditions de croissance, caractérisées par exemple par une faible intensité lumineuse (ii) les particularités des sols tropicaux testés ayant potentiellement des populations denses en microorganismes pathogènes et saprophytes « faux positifs » potentiels, (iii) le matériel végétal utilisé, dont la croissance racinaire ou la perméabilité aux CMA ne permet peut-être pas à ces derniers d'avoir une croissance aussi rapide que dans le poireau. Nous pouvons supposer qu'un ou plusieurs de ces facteurs sont responsables du ralentissement du développement des CMA.

La solution la plus envisageable pour l'avenir, est d'adapter la durée de croissance aux conditions présentes. Pour ce faire, un test préliminaire peut être réalisé, avec les sols non dilués et dans les mêmes conditions que le test ultérieur, afin d'étudier l'évolution du pourcentage de plantes

infectées en fonction du temps de croissance. Pour chaque sol étudié, la courbe est d'apparence sigmoïde, comprenant donc trois phases distinctes (exponentielle, linéaire et asymptotique). Conformément aux travaux d'autres auteurs (Bevege and Bowen 1975 ; Sanders et Sheikh 1983 ; Sutton 1973 dans Plenchette et Al. 1989) nous pouvons assumer, qu'à la moitié de la phase linéaire de la courbe, la symbiose mycorhizienne est assurée par des infections primaires uniquement. C'est d'ailleurs de cette manière que fut déterminée la période de croissance de 14 jours unanimement choisie dans la littérature. Le temps nécessaire peut être réduit par l'incubation des différents pots dans des conditions humides, qui peut accélérer l'infection de certains champignons (Wilson and Trinick, 1983).

Une autre modification du processus expérimental pourrait améliorer la qualité du signal : Le marquage de chaque système racinaire doit se faire à l'aide d'un code constitué de manière aléatoire. Ce qui empêcherait l'observateur de déduire toute information sur la racine lorsqu'il lit le code. Ainsi, l'observateur, ignorant la dilution d'origine, ne s'attend pas à une réponse prédéterminée sur la présence ou l'absence de structures mycorhiziennes. Cette précaution viendrait réduire le biais d'une observation qualitative et hautement dépendante de la subjectivité de l'opérateur.

### **3. Pour clôturer**

La piètre qualité des résultats nous empêche de tirer des conclusions nettes sur les potentiels infectieux mycorhiziens des sols étudiés. De la même manière, il nous est impossible de comparer les estimateurs MPN et PIM issus des deux méthodes. Les conclusions de ces expériences ne nous permettent donc pas de répondre au premier objectif de ce travail énoncé dans la section « matériel et méthodes ». Toutefois, le recul, le bagage théorique et pratique acquis lors de ce travail permet tout de même de comparer ces deux méthodes d'estimation dans la Cinquième Partie : Comparaison des techniques MPN et PIM<sup>94</sup>.

# Troisième Partie : analyse des résultats des MPN

---

## 1. Homogénéité des résultats obtenus et causes possibles

Les quatre densités de propagules estimées par la méthode du Most Probable Number ne sont pas significativement différentes. Trois causes non exclusives peuvent être responsables de l'homogénéité des résultats.

### 1.1. Manque de précision intrinsèque aux méthodes de calcul

Il est normal qu'une méthode de détermination indirecte des densités de propagules présente un faible degré de précision (Cochran, 1950). Comme explicité dans la revue bibliographique, la planification de l'expérience influence le degré de précision. Le ratio de dilutions ( $a$ ), les répétitions ( $n$ ) et le nombre de dilutions ( $s$ ) utilisés étaient ceux en application dans le laboratoire de mycologie de l'UCL. Le volume de sol par pots, cependant, a dû être adapté pour la Martinique en fonction des contenants trouvables dans le commerce.

Selon la formule de Cochran (1950), la quantité maximale de sol non stérile (25g) et la quantité minimale ( $25 \times \frac{1}{2^{-11}}g$ ) permettent d'estimer avec une bonne précision une densité située entre 4 et 8182 propagules/100g de sol. Nous voyons que la limite inférieure de cet intervalle est certes proche des densités que nous avons estimées, mais toujours inférieure. Des pots contenant 50g de sol, conformément à ce qui est fait à Louvain-la-Neuve auraient permis de diminuer légèrement la borne inférieure, avec un nouvel intervalle allant de 2 à 4096 propagules par 100g de sol. Ce changement n'est toutefois pas vraiment important, de sorte que la taille des pots ne semble pas être le seul facteur explicatif du manque de précision.

Intéressons nous maintenant à la distribution de 15 MPN dans la littérature (Declerck et al., 1999; Gaidashova et al., 2010), estimés avec les mêmes  $a$ ,  $s$  et  $n$ , et à partir de sols bananiers tropicaux. Nous voyons que les valeurs calculées varient de 1,5 à 102 propagules par 100g de sol. Un peu plus des trois quarts de ces valeurs se situent tout de même en dessous de 31,8 propagules/100g. Ce constat nous permet de voir que ces valeurs sont bien inférieures à la valeur maximale de l'intervalle donné plus haut, à savoir 8182. De plus la théorie nous dit que 89% de l'information sur le MPN est contenue dans les 5 dilutions entourant le volume de sol pour lequel le nombre de propagules est proche 1. (Fisher and Yates, 1949).

Nous pouvons donc conclure que le plan expérimental n'est pas inadapté aux valeurs estimées, il est toutefois possible de mettre au point une expérience mieux ajustée qui estime la densité avec une meilleure précision. En effet, les dernières dilutions n'apportent pas d'information vraiment utile pour le MPN, l'énergie mise dans leur réalisation pourrait être redirigée vers, par exemple, un plus grand nombre de répétitions. Lorsque l'on a un  $s=8$  dilutions successives au lieu de douze, toute autre chose étant égale, l'intervalle d'estimation est de 4 à 512 propagules/100g. Ce qui est largement suffisant pour nos besoins.

Ainsi, nous pourrions augmenter le nombre de répétitions pour les quelques premières dilutions, pour fournir dans un intervalle restreint une estimation plus précise tout en gardant la possibilité de réaliser des estimations dans intervalle plus large. Voici un exemple de plan d'expérience plus adapté, pour un nombre équivalent d'échantillons : Il contiendrait au total 8 dilutions, pour un intervalle d'estimation allant de 4 à 512 propagules/100g. Les 4 premières dilutions sont répétées 5 fois, tandis que les 4 dernières sont répétées 3 fois. Avec l'ajout d'un témoin, nous aurions un total de  $25 + 12 + 1 = 38$  échantillons. Rappelons que pour un même nombre d'échantillons, un plus grand nombre de dilutions demande d'avantage de main-d'œuvre. En conclusion, avec des moyens équivalents voire moindres, nous aurions pu estimer des densités inférieures à 32 propagules avec un écart-type relatif (écart-type par rapport à la valeur estimée) de 1,76 tout en conservant l'écart-type relatif de 2,23 pour les densités situées entre 32 et 512 propagules/100g.

Ce type de plan d'expérience n'est pas proposé dans les tables qui ne présentent que des valeurs de  $n$ ,  $a$  et  $s$  standardisées. L'affranchissement de ces limites est aujourd'hui rendu possible par l'utilisation d'outils informatiques dans la résolution des équations MPN (Utobo et al., 2011).

Une autre possibilité est de faire une première estimation visuelle du nombre de spores (An et al., 1990) permettant d'avoir un ordre de grandeur du potentiel infectieux et d'adapter le plan d'expérience en conséquence.

Ajoutons enfin que la méthode de Fisher et Yates ne tient pas compte des résultats de chaque dilution. Ainsi pour les sols 3 et 7, les MPN estimés sont égaux, bien que l'occurrence des positifs et négatifs soit différemment distribuée dans les 12 dilutions. Pour ces deux sols, le MPN estimé est certes celui qui maximise la probabilité d'avoir le nombre total de positifs et négatifs ( $X$  et  $Y$ ) obtenus, mais lorsqu'on s'intéresse aux  $t_i$ , nombre de positifs dans chaque dilution  $i$  réalisée, leur distribution peut être telle que la probabilité maximale d'avoir ces résultats est très faible (de Man, 1975). Il vaut mieux dans ces cas ne pas accepter ces résultats improbables. C'est pourquoi, de Man (1975) mit au point des tables de MPN restreintes aux résultats présentant une probabilité minimale d'occurrence. Leur utilisation pourrait permettre d'améliorer la précision de la méthode.

Au-delà de ces considérations mathématiques, le processus expérimental peut contenir des erreurs par rapport aux postulats de base de la méthode (abordés dans la revue bibliographique). C'est ce que nous allons analyser dans la section suivante.

## **1.2. Manque de précision lié au processus expérimental**

En introduction, notons que les paragraphes portant les lettres (a) à (c) font allusion aux facteurs du processus expérimental affectant l'estimation du nombre de propagules. Tandis que la section portant la lettre (d) parle des facteurs de l'expérience affectant directement le nombre de propagules.

### **1.2.1. Taille des racines et taille des pots**

Les bio-tests basés sur l'infection de plantes pour l'estimation des MPN détectent rarement toutes les propagules présentes dans le substrat (Wilson and Trinick, 1983). L'emphasis à déjà été mise sur l'importance de l'exploration racinaire du volume du pot pour se rapprocher du deuxième postulat. A savoir, l'expressivité de chaque propagule infectieuse éventuellement présente dans le substrat. La taille des pots, si elle agit comme un facteur limitant pour la croissance racinaire, peut biaiser l'estimation. En effet, dans les travaux de Daniels et al (1981), les contenants de 20g de sol furent



présupposés responsables de la sous-estimation des MPN, en effet, la taille de ces pots était peut-être insuffisante pour permettre une croissance racinaire pendant toute la durée de croissance, l'infection mycorhizienne n'avait dès lors pas lieu, car les vieux tissus racinaires étaient incompatibles avec les propagules infectieuses de CMA. Toutefois, dans notre cas, bien qu'aucune mesure ne puisse appuyer ce fait, les systèmes racinaires observés étaient de petite taille, et n'avaient colonisé qu'une très petite proportion du volume du pot. La taille du pot ne semble donc pas avoir posé de problèmes à l'estimation, étant donné que le développement racinaire était très limité.

En regard de ce qui précède, tout nous porte à croire que les mauvaises conditions de croissance et/ou une éventuelle infection pathogène menèrent à une sous-estimation des résultats en limitant l'exploration et la compatibilité des systèmes racinaires.

### 1.2.2. *Mélange non homogène*

La distribution homogène des propagules dans les différentes dilutions est le premier postulat de la méthode MPN, il est important de souligner que l'atteinte de cet état est plus complexe que dans les milieux liquides, pour lesquels la méthode fut initialement conçue. Toutefois, la méthode de dilutions en séries utilisée, ainsi que les précautions prises dans les mélanges réalisés tendent à maximiser cette homogénéité.

### 1.2.3. *Matériel végétal choisi*

#### 3.1.1. Aspects techniques

Comme expliqué dans la revue bibliographique, la plante-test choisie doit présenter de bonnes caractéristiques techniques de croissance racinaire et de mycorhization, le postulat d'expressivité des propagules en dépend. Ces caractéristiques ont été prises en compte dans le choix des deux plantes utilisées (matériel et méthodes), de sorte que la responsabilité de l'aspect génétique dans la piètre croissance racinaire peut être considérée comme réduite.

Néanmoins, l'utilisation de *C. retusa* dans les MPN ne fut jamais recensée dans la littérature, si bien qu'il n'y avait pas de temps de croissance préconisé. Empiriquement, nous pouvons affirmer que les longueurs des racines observées ne semblaient pas différer de celles de *M. truncatula*. Mais pour ce qui est de l'observation des structures mycorhiziennes, les crotalaires présentaient bien moins de vésicules et spores que les luzernes, alors que le temps de croissance était égal. Beaucoup de facteurs peuvent être responsables de ces différences, nous pouvons tout de même supposer le rôle du génotype végétal dans un ralentissement du développement de la symbiose.

#### 3.1.2. Aspects méthodologiques

La technique du MPN produit une estimation uniquement valable pour les conditions expérimentales données. En effet, rappelons que l'estimation purement quantitative des MPN sous-tend une grande complexité d'interactions écologiques liées à l'aspect qualitatif des populations de CMA. Il existe certaines relations préférentielles entre hôtes et champignons, de telle sorte que le choix d'une plante-hôte appropriée peut faire qu'un membre mineur de la communauté de CMA voit son effectif augmenté (An et al., 1990). De plus, Adelman et Morton (1986) suggèrent que la méthode du MPN estime mieux le potentiel d'un sol quand on maximise l'expression des facteurs conditionnant l'établissement de la symbiose dans les conditions réelles, en d'autres termes, quand les conditions expérimentales correspondent le plus aux conditions de terrain. D'un point de vue

méthodologique donc, le choix de l'espèce végétale pour l'expérience doit être adapté à la question posée par l'expérimentateur. Dans notre cas, les densités de populations étaient estimées en vue de déduire les bénéfices potentiels de la mycorhization sur la plante cultivée. Au vu de ce qui précède, l'ananas (pour les sols 1 à 6) et la banane (pour les sols 7 à 11) eurent été adaptés. Cette remarque est également valable pour le PIM. Mais, d'un point de vue technique, cela peut être très compliqué.

#### **1.2.4. Séchage du sol**

Comme vu précédemment dans la revue bibliographique, le séchage des sols affecte négativement le nombre de propagules, en réduisant celles-ci aux spores (majoritairement). Les conditions de séchage en serre infligeaient parfois aux sols des pics de températures très élevées, les maxima pouvaient effectivement atteindre 50°C. Ces conditions extrêmes ont sûrement amoindri la population de propagules. Ceci est tout aussi valable pour l'estimation du PIM.

### **1.3. L'homogénéité des résultats reflète réellement la réalité**

Une dernière possibilité envisageable est que les MPN estimés reflètent réellement les densités de population dans les parcelles analysées, qui seraient donc semblables. Cette interprétation sera discutée en comparaison d'expériences similaires, dans la Quatrième Partie : Les MPN de la littérature scientifique p90.

## **2. Possibilités d'amélioration de l'expérience**

Au-delà des améliorations présentées dans les sections précédentes, nous pouvons ajouter, au même titre que pour les PIM, qu'une randomisation des numéros de racine permettrait de diminuer le biais causé par l'observation, et qu'une meilleure adaptation du temps de croissance aux conditions expérimentales est également de mise. Pour les MPN cependant, cette adaptation est d'autant plus aisée que la limitation du temps de croissance est uniquement définie par les moyens dont dispose l'expérimentateur. Afin d'optimiser le temps de croissance, un test peut être mené en parallèle : il suffirait de faire croître des plantes en surplus des MPN mais dans les mêmes conditions, et de les récolter après différentes périodes de croissance. A chaque récolte, un diagnostic visuel permettra de connaître d'une part le développement de la mycorhization, et d'autre part, l'exploration du substrat par le système racinaire. Pour ce dernier, cependant, une relation mathématique pourrait être mise au point afin de déterminer quelle est la masse racinaire suffisante à l'expression de toutes les propagules éventuellement présentes, en fonction du volume du substrat de croissance. Et ce, à l'aide par exemple, d'un modèle de distribution spatiale de propagules du sol (McCoy et Peterson 1974, dans Wilson and Trinick, 1983).

# Quatrième Partie : Les MPN de la littérature scientifique

---

## 1. La variabilité des MPN

Afin de tester l'hypothèse que nos résultats estiment une situation réelle, comparons nos MPN estimés à ceux trouvés dans la littérature. Rappelons toutefois que les résultats du MPN dépendent fortement des conditions expérimentales dans lesquelles ils ont été obtenus.

Les 5 MPN réalisées par Gaidashova et al. (2010), sur des exploitations bananières vivrières et peu intensives des plaines est-africaines (Rwanda) ont donné lieu à cinq différences significatives sur  $\left(\frac{5 \times 4}{2}\right) = 10$  comparaisons des estimateurs 2 à 2. Tandis que pour l'estimation de 10 MPN à partir de sols d'exploitations bananières intensives de Martinique (Declerck et al., 1999), 17 comparaisons étaient significativement différentes sur  $\left(\frac{10 \times 9}{2}\right) = 45$  comparaisons au total.

Cette analyse de la variabilité des estimations nous permet de suspecter que l'homogénéité des résultats obtenus dans ce travail ne correspond pas à la situation réelle. En effet, les travaux cités ci-dessus comportent de nombreuses similitudes à la recherche réalisée dans ce travail. Ils sont réalisés sur base d'échantillons confinés dans une région géographique donnée (la même région en ce qui concerne Declerck et al. (1999). De plus, les deux auteurs restreignent leurs échantillons à une seule affectation du sol et un même type d'agriculture. Egalisant ainsi aux conditions de ce mémoire, la manière dont varie des facteurs supposés influencer la densité de population de CMA. Malgré cela, les MPN estimés dans ces deux travaux présentent une certaine diversité, contrairement aux résultats de nos expériences.

## 2. La valeur des MPN

En ce qui concerne l'ordre de grandeur des valeurs estimées, la littérature nous indique que pour des sols de forêt marécageuse totalement inexploités en Guadeloupe, les MPN<sup>11</sup> peuvent atteindre 3800, Tandis que pour une prairie tropicale du Costa Rica, les MPN sont de l'ordre de 60 (Fischer et al., 1994). Lorsqu'on ajoute à cela les données de Declerck et al. (1999) et Gaidashova et al. (2010) (Tableau 28), nous pouvons entrevoir un gradient de MPN qui diminue en fonction de l'intensité des activités humaines en application. Appuyant ainsi les connaissances acquises sur les interactions entre agriculture et CMA.

Les MPN estimés par Declerck et al (1999) portent sur des plantations intensives de banane d'exportation. Tandis que les estimations de Gaidashova et al (2010) portent sur des plantations bananières à faible intrants. Etant donné les pratiques agricoles en application sur les parcelles de plantain étudiées dans le cadre de ce travail, les MPN estimés par Declerck et Gaidashova viennent soutenir les suspicions abordées plus haut quant à la sous-estimation des MPN de ce travail.

---

<sup>11</sup> Afin d'éviter une surcharge du texte, les unités des MPN ne sont pas mentionnées. Toutefois, ils sont tous exprimés en propagules par 100g de sol.

### 3. MPN estimés et données agro-édapho-climatiques

La faible densité de population et le manque de précision des résultats obtenus dans le cadre de ce travail amenuisent les possibilités de réalisation de l'objectif numéro 4, à savoir : la mise en relation des densités estimées avec les données agronomiques et édapho-climatiques. Cependant, un survol de données bibliographiques nous permet d'évaluer l'influence de certains facteurs agronomiques et pédo-climatiques. Les travaux de Declerck et al. (1999) et Gaidashova et al. (2010), par leurs similitudes par rapport à ce travail, ont fait l'objet d'une attention particulière. Plenchette (2000), s'intéressa également aux CMA de sols bananiers en Martinique. Il évalue ainsi la réceptivité du sol. Définie par Duvert et al (1990) comme la capacité du sol à favoriser l'établissement de symbioses à partir d'un nombre fixé de propagules présentes. Etant donné le cycle de vie des CMA, il existe une corrélation positive entre réceptivité du sol et le nombre de propagules. Il en va de même pour Gaidashova et al (2010) qui poussent la recherche plus loin en estimant les taux de colonisation racinaire par les mycorhizes parallèlement aux MPN. Il en ressort une très bonne corrélation entre ces deux types d'informations.

Le contenu de la section suivante fait donc référence à ces trois publications. Le Tableau 28 résume des données utiles pour cette analyse et leur distribution.

Tableau 28 : Distribution des résultats de type MPN et édapho-climatiques de trois publications différentes et de ce mémoire.

		Gaidashova et al. 2010	Declerck et al. 1999	Nyssens 2012	Plenchette 2000
Lieu		Rwanda	Martinique	Martinique	Martinique
Culture		Banane	Banane	Banane	Banane
Niveau d'intrants		Faible	Elevé	Faible	Elevé
MPN (propagules/100g de sol)	Moyenne	26,7	20,1	10,8	
	Minimum	2,0	1,5	7,9	
	Maximum	59,8	102,0	12,7	
	Mediane	14,7	10,3	11,4	
Phosphore (µg/g)	Moyenne	39,9	123,0	16,3	41,6
	Minimum	8,9	10,0	3,6	8,1
	Maximum	65,5	300,0	27,2	103,0
	Médiane	43,7	90,0	17,2	24,8
	Methode	OLSEN	OLSEN	TRUOG	OLSEN
CEC (Cmol/kg)	Moyenne	21,6	19,3	16,7	22,4
	Minimum	12,1	9,0	5,6	8,7
	Maximum	31,0	37,6	23,3	43,0
	Médiane	23,2	17,7	19,0	20,2
Précipitations (mm/an)	Moyenne	1186	2649	3250	
	Minimum	892	1480	2500	
	Maximum	1480	4590	4500	
	Médiane	1170	2570	3000	
pH	Moyenne	6,0	4,9	5,8	5,0
	Minimum	5,1	4,1	5,4	4,7
	Maximum	6,7	5,5	6,1	5,4
	Médiane	6,1	5,1	5,9	5,0
	Méthode	KCl	H2O	H2O	H2O

### 3.1. Précipitations

Pour les sols rwandais (Gaidashova et al., 2010), il existe une corrélation positive entre pluviométrie et densité de propagules. Le mécanisme avancé est le manque d'eau agissant en tant que facteur limitant la croissance de racines secondaires diminuant à son tour la prolifération des CMA. Dans le cas de la Martinique, les niveaux de pluviométrie sont bien plus élevés (Tableau 28) de sorte qu'ils ne semblent pas influencer la densité de CMA par ce mécanisme. Cette corrélation est d'ailleurs absente chez Declerck et al. Pour notre travail, les pluviométries rencontrées sont encore moins contrastées que dans Declerck et al. (1999) nous pouvons dès lors supposer que les densités de propagules sont indépendantes de la pluviométrie.

### 3.2. Structure du sol

Les trois auteurs trouvent une corrélation négative entre un sol de granulométrie grossière et la colonisation racinaire (Plenchette, 2000; Gaidashova et al., 2010) ou la densité de propagules (Declerck et al., 1999; Gaidashova et al., 2010). Cependant Gaidashova et al. l'expliquent à travers le prisme du bilan hydrique. En effet, la finesse du sol, via une meilleure rétention d'eau, améliore la croissance racinaire et donc la propagation de CMA (voir section précédente). Ces phénomènes semblent toutefois moins importants dans le climat martiniquais. Toujours est-il que des sols tropicaux lourds semblent avoir une meilleure densité de propagules (Cortes 1986 et Sieverding 1991 dans Declerck et al., 1996). Cet effet n'est cependant marqué dans les travaux de Declerck et al. que pour les sols alluviaux d'origine basaltique, type de sol qui ne fut pas échantillonné dans le cadre de ce travail. D'autres types de sol analysés par Declerck et al. (1999) et utilisés dans ce travail (Jh, Pb, Pc, Ha) ne sont pas corrélés au MPN, tandis que pour ces mêmes sols, le pourcentage d'argile est positivement relié à la réceptivité mycorhizienne (Plenchette, 2000). Nous n'avons pas accès aux mesures structurales des sols testés, nous ne pouvons dès lors en dire d'avantage à l'égard de notre situation.

### 3.3. Phosphore

En raison des considérations abordées dans la revue bibliographique, tout nous porte à croire qu'il existe une forte relation entre la concentration de Phosphore et l'intensité de mycorhization (et par extension, la densité de propagules). Les travaux de Declerck et al. (1999) et Gaidashova et al. (2010) n'ont toutefois pas fait ressortir de corrélation significative entre MPN et Phosphore mesuré par la méthode d'Olsen, bien que dans les deux publications, des faibles taux de Phosphore (10 et 6,9  $\mu\text{g/g}$  respectivement pour Declerck et Gaidashova) correspondent aux plus grands MPN.

Or, dans leurs travaux, Lin et Fox en 1992 (cité dans Declerck et al., 1995) ont suggéré qu'un niveau de phosphore de 12 $\mu\text{g/g}$  (Olsen) donnait les meilleurs résultats de mycorhization des bananiers. Ces valeurs sont proches de celles responsables des MPN les plus élevés chez Declerck et al (1999) et chez Gaidashova et al. (2010). A la lumière de ces faits, nous pouvons penser que l'absence de corrélation chez ces deux auteurs est la conséquence de valeurs de Phosphore trop élevées que pour influencer la mycorhization. En effet, l'ordre de grandeur des P mesurés dans Declerck et al. (2010) est bien supérieur à 12 $\mu\text{g/g}$ , (médiane = 90). Il l'est un peu moins chez Gaidashova et al. (2010) (médiane = 43,7). Tandis que pour Plenchette (2000), le Phosphore (Olsen) est un des facteurs explicatifs de la réceptivité du sol et les niveaux enregistrés sont plus proches de 12 $\mu\text{g/g}$  (médiane = 24,8).

Quant à nos sols, les valeurs de Phosphore mesurées sont faibles (médiane = 17,2). Nous pouvons donc espérer que ces valeurs favorisent la mycorhization. Bien que la comparaison soit limitée par l'utilisation d'une méthode d'extraction différente (Truog).

Ajoutons que tous les sols testés par Plenchette (2000) ont également fait l'objet d'une mesure de la biodisponibilité de Phosphore par la méthode de cinétique d'échange isotopique. Il en est ressorti que tous avaient : (i) un grand pouvoir fixateur de P, (ii) Une solution de sol très pauvre en P. Les mêmes types de sol ont été testés dans ce mémoire (à l'exception de Fe, qui ne fut pas échantillonné dans les travaux cités). Cela nous permet de supposer que le pouvoir fixateur de Phosphore dans nos sols est favorable au développement de CMA.

### **3.4. Autres caractéristiques chimiques**

Pour ce qui est de la capacité d'échange cationique, du pH, des rapports C/N, les trois travaux tirent des conclusions différentes et parfois contradictoires sur les effets de ces facteurs sur la quantité de propagules. Cela peut s'expliquer par la complexité des interactions existant entre les CMA et les caractéristiques chimiques des sols qui influencent les premiers tant quantitativement que qualitativement et de manière différente à long terme (caractéristique intrinsèques des sols) ou à court terme (activités humaines) (Abbott and Robson, 1991). Cela ne nous permet donc pas d'établir de pronostique pour notre situation.

### **3.5. Pratiques agricoles**

La trop petite variabilité agronomique des situations étudiées par chacun de ces trois auteurs n'a pas permis pas de dégager de corrélations avec les densités de propagules ou taux de mycorhization estimés.

Toutefois, concernant les perturbations du sol, les résultats de Gaidashova et al (2010) montrent un taux de mycorhization moindre pour l'unique sol dans lequel un labour est réalisé avant la plantation des bananiers, ce qui correspond à la situation rencontrée dans toutes les parcelles visitées lors de ce travail.

Les données culturales des sols étudiés n'ont pas été relevées dans le travail de Declerck et al. (1999), en regard des considérations de la revue bibliographique sur les pratiques en application dans les systèmes bananiers d'exportation, et lorsqu'on les compare à nos parcelles de plantain, nous pouvons tout de même affirmer que les activités agricoles en application sur ces dernières favorisent d'avantage l'établissement de symbioses mycorhiziennes. En effet les données bibliographiques, appuyées par les entretiens réalisés, démontrent dans ces systèmes l'existence de facteurs tels que : (i) un plus grand taux de couverture des sols par des adventices ou des cultures associées, (ii) des pratiques de rotations culturales, (iii) un plus faible niveau d'intrants phytosanitaires et fertilisants.

# Cinquième Partie : Comparaison des techniques MPN et PIM

---

Bien que les deux méthodes ne permettent pas de réaliser les mêmes estimations, les considérations dans la revue bibliographique nous permettaient d'affirmer que l'estimateur PIM est plus précis et sensible. Cependant, étant donné l'expérience et du recul accumulés, nous pouvons apporter des informations complémentaires afin d'enrichir cette comparaison.

## 1. Niveaux des dilutions

Les très petites dilutions utilisées dans les MPN sous-estiment les interactions biologiques potentielles dans le substrat, notre expérience a montré que la présence de sol stérile en grande quantité diminue le rapport bruit-signal lors de l'observation des racines. En effet, la présence en plus petite quantité de mycélium non mycorhizien dans les MPN facilitait l'observation et la détermination des positifs. Rappelons que le rapport bruit-signal élevé est suspecté d'être une des causes majeures de la piètre qualité des PIM estimés dans ce travail.

D'un autre côté, les taux plus élevés de sol stérile dans les MPN offrent une plus grande niche écologique pour les éventuels « faux positifs » et la plus longue période de croissance permet à ceux-ci de se développer d'avantage.

## 2. Matériel Végétal Utilisé

Par rapport au MPN, la gestion de quatre fois plus de matériel végétal (160/37) augmente la quantité de main d'œuvre nécessaire aux PIM, ainsi que la difficulté de l'expérimentation. La méthode du PIM requiert certes moins d'échantillons par sol testé, mais est sans aucun doute plus intensive en travail. Cependant cette dernière nécessite moins d'espace.

## 3. Temps de croissance

Le temps de croissance de la méthode MPN est bien plus long, cependant il est plus résilient, en effet, un dépassement de la période de croissance modifie le MPN estimé, mais pas la qualité de l'estimation. Tandis que pour le PIM, une période de croissance trop courte mène aux problèmes que nous avons connus, alors qu'une période de croissance trop longue est source d'infections secondaires.

# Sixième Partie : Perspectives

---

## 1. Les MPN et PIM comme outil de diagnostic pour les systèmes agraires :

Comme vu dans la revue bibliographique, la dépendance mycorhizienne est un outil très bien adapté au diagnostic et à la gestion des symbioses mycorhiziennes dans les systèmes agraires (...). Nous pouvons dès lors nous interroger sur la pertinence de l'utilisation des MPN et PIM, estimateurs utilisés dans le cadre de ce travail dans la prise de décision agronomique.

En effet, tant les informations disponibles dans la bibliographie que celles fournies par nos résultats font ressortir l'aspect limité de ces estimateurs aux conditions de l'expérience réalisée, et corollairement, la difficulté de produire à partir de ces résultats des inférences sur les bénéfices agronomiques potentiels de la population mycorhizienne dont l'infectivité a été estimée. Ces estimateurs ne nous permettent pas non plus de planifier directement des applications pratiques (Plenchette et al., 1989).

Par conséquent, des informations supplémentaires doivent venir compléter les MPN et PIM. Dans la mesure où les effets agronomiques de la mycorhization dépendent probablement davantage des activités de certaines espèces présentes que de toute la communauté de CMA (An et al., 1990), l'évaluation de l'aspect qualitatif de la communauté de CMA est pertinente. Cela peut se faire, par exemple, via la réalisation de MPN où les spores produites dans les différentes dilutions sont isolées, comptées et identifiées. La densité totale de propagules est la somme des densités de chaque espèce calculée par MPN. (An et al., 1990). Ou encore, il peut être pertinent de réaliser des analyses des racines prélevées au champ, afin d'observer la mycorhization in-situ (Gaidashova et al., 2010) et d'estimer la présence relative de chaque souche de CMA dans la colonisation totale de la racine (Adelman and Morton, 1986).

L'étude bibliographique nous renseigne sur la diversité des bénéfices que peut apporter la symbiose mycorhizienne, et nous avons également compris qu'en dépit de cette multifonctionnalité, l'augmentation des populations de CMA ne se justifie pas dans tous les systèmes agraires. Ajoutons que de la diversité des agricultures découle la multiplicité des méthodes de gestion de ces champignons. Nous pouvons dès lors mesurer l'importance d'une analyse agro-écologique<sup>12</sup> du système agricole ciblé.

Malgré l'imprécision des MPN-PIM et leur portée limitée, ces concepts d'infectivité sont « bien adaptés au suivi des effets des pratiques agricoles sur l'infectivité des CMA, et fournissent une unique valeur chiffrée appropriée aux comparaisons de différentes situations » (Plenchette et al., 1989). Leur rôle est essentiel en tant que première approche, utilisés comme un outil de diagnostic permettant d'établir un ordre de grandeur, une vision générale à haute valeur comparative. Cependant, afin de conforter ce rôle, les processus expérimentaux produisant ces estimateurs doivent, à l'avenir, continuer d'être améliorés et modifiés afin de devenir une expérience commune

---

<sup>12</sup> Afin d'éviter tout amalgame, notons que le terme agro-écologie fait ici référence à la méthodologie scientifique, et non à la mouvance idéologique.



et routinière à l'instar d'une analyse de capacité d'échange (Plenchette et al., 2005). C'est une des conditions, selon Plenchette et al. (2005), permettant une meilleure prise en compte des symbioses mycorhiziennes dans les systèmes agraires.

## Références bibliographiques

- Abbott, L.K., Robson, A.D. (1991).** Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, ecosystems & environment* 35, 121–150.
- Adelman, M.J., Morton, J.B. (1986).** Infectivity of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: Influence of host-soil diluent combinations on MPN estimates and percentage colonization. *Soil Biology and Biochemistry* 18, 77–83.
- Adriano-Anaya, M., Solis-Dominguez, F., Gavito-Pardo, M.E., Salvador-Figueroa, M. (2006).** Agronomical and Environmental Factors Influence Root Colonization, Sporulation and Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi at a Specific Phenological Stage of Banana Trees. *Journal of Agronomy* 5, 11-15
- Alderete-Chavez, A., Aguilar-Marin, L., De la Cruz-Landero, N., Guerra-Santos, J.J., Brito, R., Guevara, E., Gelabert, R. (2010).** Effects of scarification chemical treatments on the germination of *Crotalaria retusa* L. seeds. *Journal of Biological Sciences* 10, 541–544.
- Alexander, M., 1982.** Most probable number method for microbial populations. In *Methods of soil analysis part 2* (éd. Page A.L) American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, 815–820.
- An, Z.-Q., Hendrix, J.W., Hershman, D.E., Henson, G.T. (1990).** Evaluation of the “Most Probable Number” (MPN) and Wet-Sieving Methods for Determining Soil-Borne Populations of Endogoneaceous Mycorrhizal Fungi. *Mycologia* 82, 576-585
- Azcón-Aguilar, C., Barea, J.M. (1997).** Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens—an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6, 457–464.
- Bethlenfalvay, G.J., Franson, R.L. (1989).** Infection unit method of vesicular-arbuscular mycorrhizal propagule determination. *Soil Science Society of America Journal* 53, 754–756.
- Bethlenfalvay, G.J. (1993).** The mycorrhizal plant-soil system in sustainable agriculture. *Agroecología, sostenibilidad y educación*. Ed. Ferrera-Cerratos y L. R: Quintero. Centro de Edafología. Colegio de Posgraduados. Montecillos, México
- Blazy, J.M., Peregrine, D., Diman, J.L., Causeret, F. (2008).** Assessment of banana farmers’ flexibility for adopting agro-ecological innovations in Guadeloupe: a typological approach, in: CD-ROM *Proceedings of the 8th European IFSA Symposium, Workshop*. pp. 457–468.

- Bouhot, D., Joannes, H. (1979).** Ecologie des champignons parasites dans le sol—IX. Mesures du potentiel infectieux des sols naturellement infestés de *Pythium* SP. *Soil Biology and Biochemistry* 11, 417–429.
- Brown, M.F., King, E.J. (1982).** Morphology and histology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. A. Anatomy and Cytology. In *Methods and principles of mycorrhizal research* (Schenck, N, C éd.). American Phytopathology Society: St Paul 15–21.
- Cardoso, I.M., Kuyper, T.W. (2006).** Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture, ecosystems & environment* 116, 72–84.
- Carre, M., Cotteux, E., Rombaut, M., Grimbuhler, S., Didelot, D. (2011).** Lutte contre les cercosporioses du bananier aux Antilles françaises. Évaluation et amélioration des techniques disponibles d'épandage aérien et terrestre. *Sciences Eaux et Territoires, Spécial. Optiban, des solutions innovantes pour le traitement des bananiers* (2011), 4 - 9
- Chabrier, C., Quénéhervé, P. (2008).** Preventing nematodes from spreading: A case study with *Radopholus similis* (Cobb) Thorne in a banana field. *Crop Protection* 27, 1237–1243.
- Cochran, W.G., (1950).** Estimation of bacterial densities by means of the “most probable number”. *Biometrics* 6, 105–116.
- Colmet-Daage, F., Lagache, P., de Crécy, J., Gautheyrou, J., Gautheyrou, M., de Lannoy, M. (1965).** Caractéristiques de quelques groupes de sols dérivés de roches volcaniques aux Antilles françaises. *Cahiers ORSTOM. Série Pédologie* 3, 91–121.
- Daniels, B.A., McCool, P.M., Menge, J.A. (1981).** Comparative inoculum potential of spores of six vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 89, 385–391.
- Daniels, B.A., Skipper, H.D. (1982).** Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In *Methods and principles of mycorrhizal research* (Schenck, N, C éd.). American Phytopathology Society: St Paul 29–35.
- De Man, J.C. (1975).** The probability of most probable numbers. *Applied Microbiology and Biotechnology* 1, 67–78.
- Declerck, S., Plenchette, C., Strullu, D.G. (1995).** Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant and Soil* 176, 183–187.
- Declerck, S., Plenchette, C., Risede, J.-M., Strullu, D.G., Delvaux, B. (1999).** Estimation of the population density of arbuscular mycorrhizal fungi in soils used for intensive banana cultivation in Martinique. *Fruits* 54, 3–9.

- Declerck, S., Strullu, D., Plenchette, C., Guillemette, T. (1996).** Entrapment of in vitro produced spores of *Glomus versiforme* in alginate beads: in vitro and in vivo inoculum potentials. *Journal of Biotechnology* 48, 51–57.
- Douds Jr., D.D., Galvez, L., Janke, R.R., Wagoner, P. (1995).** Effect of tillage and farming system upon populations and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 52, 111–118.
- Douds Jr, D.D., Nagahashi, G., Pfeffer, P.E., Kayser, W.M., Reider, C., (2005).** On-farm production and utilization of arbuscular mycorrhizal fungus inoculum. *Canadian Journal of Plant Science* 85, 15–21.
- Duponnois, R., Plenchette, C., Thioulouse, J., Cadet, P. (2001).** The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular mycorrhizal fungal spore communities in soils of different aged fallows in Senegal. *Applied Soil Ecology* 17, 239–251.
- Duvert, P., Perrin, R., Plenchette, C. (1990).** Soil receptiveness to VA mycorrhizal association: Concept and method. *Plant and Soil* 124, 1–6.
- Finney, D.J. (1979).** Bioassay and the Practice of Statistical Inference. *International Statistical Review* 47, 1–12.
- Fischer, C.R., Janos, D.P., Perry, D.A., Linderman, R.G., Sollins, P. (1994).** Mycorrhiza Inoculum Potentials in Tropical Secondary Succession. *Biotropica* 26, 369–377.
- Fisher, R.A., Yates, F. (1949).** Statistical tables for biological, agricultural and medical research. 112 pp.
- Gaidashova, S.V., Van Asten, P.J.A., Jefwa, J.M., Delvaux, B., Declerck, S. (2010).** Arbuscular mycorrhizal fungi in the East African Highland banana cropping systems as related to edapho-climatic conditions and management practices: case study of Rwanda. *Fungal Ecology* 3, 225–233.
- Germani, G., Plenchette, C. (2004).** Potential of *Crotalaria* species as green manure crops for the management of pathogenic nematodes and beneficial mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 266, 333–342.
- Gianinazzi, S., Gollotte, A., Binet, M.N., Van Tuinen, D., Redecker, D., Wipf, D. (2010).** Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza* 20, 519–530.
- Harrier, L., Watson, C.. (2003).** The role of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable cropping systems, *Advances in Agronomy*, 79, 185–225.

- Jaizme-Vega, M.C., Azcón, R. (1995).** Responses of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 5, 213–217.
- Jefwa, J., Vanlauwe, B., Coyne, D., van Asten, P., Gaidashova, S., Rurangwa, E., Mwashasha, M., Elsen, A. (2010).** Benefits and Potential Use of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in Banana and Plantain (*Musa* spp.) Systems in Africa. *Acta Horticulturae* 479.
- Jordan N.R., Zhang J., Huerd S. (2000).** Arbuscular-mycorrhizal fungi: potential roles in weed management. *Weed Research* 40, 397–410.
- Lassoudière, A. (2007).** Le bananier et sa culture. Editions Quae. pp 383
- Maloy, O.C., Alexander, M. (1958).** The“ most probable number” method for estimating populations of plant pathogenic organisms in the soil. *Phytopathology* 48, 126–128.
- McGonigle, T.P., Miller, M.H. (2000).** The inconsistent effect of soil disturbance on colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi: a test of the inoculum density hypothesis. *Applied Soil Ecology* 14, 147–155.
- McGraw, A., Hendrix, J. (1986).** Influence of soil fumigation and source of strawberry plants on population densities of spores and infective propagules of endogonaceous mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 94, 425–434.
- Perret, S., Dorel, M. (1999).** Relationships between land use, fertility and Andisol behaviour: examples from volcanic islands. *Soil Use and Management* 15, 144–149.
- Phillips, J.M., Hayman, D.S. (1970).** Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55, 158–161.
- Plenchette, C., Fortin, J., Furlan, V. (1983).** Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant and Soil* 70, 199–209.
- Plenchette, C., Perrin, R., Duvert, P. (1989).** The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to Endomycorrhizas. *Canadian Journal of Botany* 67, 112–115.
- Plenchette, C. (2000).** Receptiveness of some tropical soils from banana fields in Martinique to the arbuscular fungus *Glomus intraradices*. *Applied Soil Ecology* 15, 253–260.

- Plenchette, C., Clermont-Dauphin, C., Meynard, J.M., Fortin, J.A. (2005).** Managing arbuscular mycorrhizal fungi in cropping systems. *Canadian journal of plant science* 85, 31–40.
- Porter, W. (1979).** The “most probable number” method for enumerating infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Soil Research* 17, 515–519.
- Rengel, Z. (2002).** Breeding for better symbiosis. *Plant and Soil* 245, 147–162.
- Rovira, A.D., Bowen, G.D. (1966).** The effects of micro-organisms upon plant growth. *Plant and Soil* 25, 129–142.
- Saint-Etienne, L., Paul, S., Imbert, D., Dulormne, M., Muller, F., Toribio, A., Plenchette, C., Bâ, A.M. (2006).** Arbuscular mycorrhizal soil infectivity in a stand of the wetland tree *Pterocarpus officinalis* along a salinity gradient. *Forest Ecology and Management* 232, 86–89.
- Sieverding, E. (1990).** Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 29, 369–390.
- Smith, S.E., Robson, A.D., Abbott, L.K. (1992).** The involvement of mycorrhizas in assessment of genetically dependent efficiency of nutrient uptake and use. *Plant and Soil* 146, 169–179.
- Smith, S.E. (1995).** Discoveries, discussions and directions in mycorrhizal research. In *Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology* (A Varma, B Hock éd.). Springer Verlag, Berlin. pp. 3–24.
- Soler, A., Alphonsine, P.M., Corbion, C., Marie-Luce, S., Queneherve, P. (2012).** Les défenses naturelles des plantes contre les bioagresseurs: un nouvel atout dans la mise au point de systemes de cultures plus ecologiques. *Les Cahiers du PRAM* 31–34.
- Temple, L., Marie, P., Bakry, F. (2008).** Les déterminants de la compétitivité des filières bananes de Martinique et de Guadeloupe. *Economie rurale* 306, 36–54.
- Utobo, E.B., Ogbodo, E.N., Nwogbaga, A.C. (2011).** Techniques for Extraction and Quantification of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Libyan Agriculture Research Center Journal International* : 68-78, 2011
- Vierheilig, H., Coughlan, A.P., Wyss, U., Piché, Y. (1998).** Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 5004–5007.

**Wilson, J.M., Trinick, M.J. (1983).** Factors affecting the estimation of numbers of infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi by the most probable number method. Soil Research 21, 73–81.

**Wollum, A.G. (1982).** Cultural methods for soil microorganisms. In Methods of soil analysis. Part 2, Chemical and microbiological properties (Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. ed.). Madison; Agronomy, 1982, 1159 p. 781-801

## Sites internet consultés

**Agreste (2010).** Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt : La statistique, l'évaluation et la prospective agricole. Martinique: Mémento régional 2009.  
<http://www.agreste.agriculture.gouv.fr/en-region/martinique/#region691> consulté en juin 2012

**DAAF (2007).** Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt de la Martinique - Enquête Structure. <http://daaf972.agriculture.gouv.fr/spip.php?article86> consulté en juin 2012

**DAAF (2012a).** Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt de la Martinique - Publications statistiques. <http://daaf972.agriculture.gouv.fr/spip.php?rubrique328> consulté en juillet 2012

**DAAF (2012b).** Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt de la Martinique - Filières de diversification végétale Martinique 2010 <http://daaf972.agriculture.gouv.fr/spip.php?article211> consulté en juillet 2012

**DEAL (2011).** Direction de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement Martinique. Les chiffres clés de l'environnement de Martinique 2011 <http://www.martinique.developpement-durable.gouv.fr/les-chiffres-cles-de-l-a224.html> consulté en juin 2012

**IEDOM (2007).** Institut d'Emission des Départements d'Outre-Mer. Note n°41 - La filière banane à la Martinique : état des lieux et perspectives. <http://www.iedom.fr/martinique/publications-47/les-notes-expresses-247/les-notes-expresses-par-ordre-chronologique-124/la-filiere-banane-a-la-martinique-etat-des-lieux-et-perspectives-no-41-juillet-2007.html> consulté en avril 2012

**Insee (2010).** Institut national de statistique et études économiques. Martinique - Présentation de la région.  
<http://www.insee.fr/fr/regions/martinique/default.asp?page=faitsetchiffres/presentation/presentation.htm> consulté en juin 2012

**Lassoudière, A. (1978).** Schéma général du bananier.

[http://www.cd3wd.com/cd3wd\\_40/INPHO/VLIBRARY/X0024F/GIF/X0024F01.GIF](http://www.cd3wd.com/cd3wd_40/INPHO/VLIBRARY/X0024F/GIF/X0024F01.GIF) consulté en juin 2012

**Météo France, (2001).** Courbe annuelle des moyennes de températures et précipitations au

Lamentin, Martinique [http://www.meteo.fr/temps/dontom/antilles/public/meteoPLUS/climat/climat\\_mart.html](http://www.meteo.fr/temps/dontom/antilles/public/meteoPLUS/climat/climat_mart.html) consulté en mai 2012

**SIDE (2011).** Portail Système Documentaire de l'Environnement - Région Martinique : Profil

environnemental Martinique. <http://www.side.developpement-durable.gouv.fr/medias/medias.aspx?INSTANCE=exploitation&SITE=18> consulté en juillet 2012

## Support de cours

**Declerck, S., (2011).** BRES 2106 Gestion Intégrée du Système Sol-Plante. Partie B. Microbiologie du Sol.